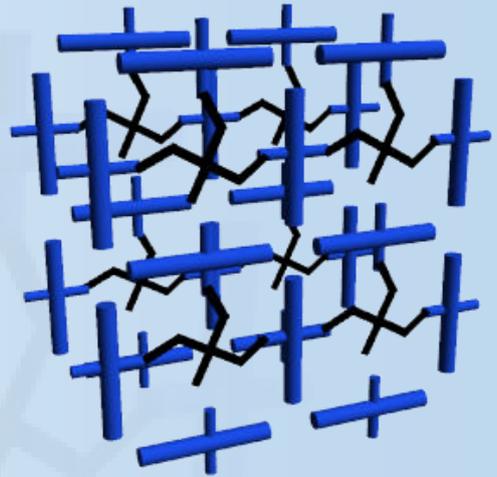


Synthese und Funktionalisierung von oberflächengebundenen wohldefinierten Netzwerkpolymeren für biomedizinische Anwendungen



Sophia Katharina Schmitt

Synthese und Funktionalisierung von oberflächengebundenen
wohldefinierten Netzwerkpolymeren für biomedizinische
Anwendungen

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

von der KIT-Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte

DISSERTATION

von

Dipl. Chem. Sophia Schmitt

aus

Karlsruhe

KIT-Dekan: Prof Willem Klopper

Referent: Prof. Christof Wöll

Korreferent: Prof. Peter Roesky

Tag der mündlichen Prüfung: 08.02.2016



Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung –
Weitergabe unter gleichen Bedingungen 3.0 Deutschland Lizenz
(CC BY-SA 3.0 DE): <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/de/>

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich diese Arbeit selbstständig angefertigt habe und keine anderen, als die angegebenen Quellen und Hinweise benutzt, sowie die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche kenntlich gemacht und die Satzung des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis in der gültigen Fassung beachtet habe. Die elektronische Version der Arbeit stimmt mit der schriftlichen überein und die Abgabe und Archivierung der Primärdaten gemäß Abs. A (6) der Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis des KIT beim Institut ist gesichert.

Karlsruhe, 01.04.2016

Sophia Schmitt

Inhaltsverzeichnis

Motivation	1
1 Einleitung	5
1.1 Metall-organische Gerüstverbindungen (MOFs)	5
1.1.1 Terminologie und Entwicklung der MOFs	6
1.1.2 Aufbau und Design von MOFs	7
1.1.3 Eigenschaften und Anwendungen von MOFs.....	9
1.2 Oberflächengebundene Metall-organische Gerüstverbindungen (SURMOFs)	11
1.2.1 Verarbeitungsmethoden oberflächengebundener MOF Netzwerke	11
1.2.2 MOF-Beschichtung von magnetischen Nanopartikel (magMOFs)	15
1.2.3 Wasserstabilität und Biokompatibilität von MOFs.....	17
1.2.4 Wasserstabilität und Biokompatibilität von SURMOFs	20
1.3 Konversion von SURMOFs zu SURGELS	23
1.4 Biomaterialien	26
1.4.1 Für Biomaterialien relevante Zelltypen	26
1.4.2 Biomaterialien und deren Einsatz in „Tissue Engineering“ und der Wirkstofffreisetzung	27
1.4.3 Zellkommunikation im Organismus.....	29
1.4.4 SURGEL Biomaterialien	29
2 Grundlagen der verwendeten Methoden	31
2.1 Röntgen Diffraktometrie	31
2.1.1 Pulverdiffraktometrie	32
2.1.2 Out-of-plane und in-plane Röntgendiffraktometrie.....	33
2.2 Infrarot Spektroskopie	35
2.2.1 Abgeschwächte-Totalreflexions-Infrarot-Spektroskopie (ATR).....	37
2.2.2 Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS)	38
2.3 Oberflächenplasmonenresonanz - Spektroskopie	40
2.4 UV-VIS Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie	42
2.3.1 Absorptionsspektroskopie	43
2.3.2 Fluoreszenzspektroskopie	43
2.5 Optische Mikroskopie	45
2.4.1 Fluoreszenzmikroskopie	46

2.6 Elektronenmikroskopie	48
2.5.1 Rasterelektronenmikroskopie (SEM)	48
2.5.2 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).....	50
2.7 Quarzkristall Mikrowaage mit Dissipationsaufzeichnung (QCM-D)	51
2.8 ToF-SIMS.....	53
3 Material und Experimente	55
3.1 Materialien..	55
3.2 Vorbereitung der Substrate	56
3.2.1 Funktionalisierung der Gold Substrate	56
3.2.2 Funktionalisierung der magnetischen Nanopartikel.....	56
3.3 Synthese der organischen Linkermoleküle	58
3.3.1 Bis(azidomethyl)-terphenyldicarbonsäure (BA-TPDC).....	58
3.3.2 Synthese von 2,2'-diazido-4,4'-stilbendicarbonsäure(DA-SBDC)...	60
3.3.3 Synthese von 2,5-Bis(allyloxy)-1,4-Benzoldicarbonsäure (BA-BDC)	61
3.3.4 Synthese von para-terphenyldicarbonsäure (TPDC)(10)	62
3.3.5 Synthese von Trimethylethantriopropiolat (11)	62
3.4 Synthese der Metall-organischen Gerüstverbindungen	64
3.4.1 SURMOF-Synthese auf Gold beschichteten Silizium- und Glimmersubstraten	64
3.4.2 magMOF Synthese auf magnetischen Nanopartikeln	68
3.4.3 Synthese von MOF-Einkristallen	71
3.5 Postsynthetische Modifikation der SURMOF Substrate	73
3.5.1 SURGEL Umwandlung von [Cu(DA-SBDC)] und [Cu(DA- SBDC)(dabco) _{0.5}]	73
3.5.2 SURGEL Umwandlung von [Zn(BA-BDC)] und [Zn(BA- BDC)(dabco) _{0.5}]	74
3.6 Postsynthetische Modifikation der magMOF Partikel.....	76
3.6.1 magGEL Nanopartikel.....	76
3.6.2 Synthese der multilagigen Farbstoff-funktionalisierten Mikropartikel.....	76
3.6.3 Synthese der Farbstoff beladenen magGEL Kapseln	78
3.7 Übertragung der SURGEL Membranen	81
3.8 Funktionalisierung und Strukturierung der SURGELS	83
3.8.1 Funktionalisierung mit RGD	83
3.8.2 Funktionalisierung mit Oligoethylenglycol (OEG)	84

3.9 Durchführung der Zellexperimente	86
3.9.1 CAL-72 Zellen	86
3.9.2 Mesenchymale Stammzellen (MSC)	87
4 Ergebnisse	88
4.1 Stimuli-responsive Polymersysteme zum Einsatz in der kontrollierten Wirkstofffreisetzung.....	90
4.1.1 Einleitung	90
4.1.2 Farbstoffbeladene, hierarchisch strukturierte magMOF-Partikel.....	91
4.1.3 Konvertierung der magMOF zu magGEL Partikeln.....	93
4.1.4 Synthese stimuli-responsiver SURGEL-Kapseln durch multifunktionale Polymerarchitektur.....	93
4.1.5 Fluoreszenzfarbstoffbeladene SURGEL-Kapseln als Modellsystem für die Wirkstofffreisetzung	98
4.1.6 Kontrollierte Farbstoffabgabe und Wiederbeladung der Kapseln...	100
4.1.7 Zusammenfassung.....	102
4.2 Biofunktionalisierung der Oberflächen für die Verwendung als Zellkultursubstrate.....	104
4.2.1 Einleitung	104
4.2.2 Mesenchymale Stammzellen (MSC) und deren Kultivierung auf den SURGEL-Substraten.....	104
4.2.3 Die CAL-72 Zelllinie und deren Kultivierung auf den SURGEL-Substraten	106
4.2.4 Herstellung strukturierter RGD Substrate durch lichtinduzierte Thiol- in Klick Reaktion.....	112
4.2.5 Oligoethylenglykol (OEG) funktionalisierte SURGEL Substrate.....	116
4.2.6 Zusammenfassung.....	121
4.3 Molekulare Strukturierung und Variabilität von SURGEL.....	122
4.3.1 Einleitung	122
4.3.2 Thiol-en Klick Reaktion zur Quervernetzung von [Zn(BA-BDC)] Einkristallen	124
4.3.3 Konvertierung von [Zn(BA-BDC)] bzw. [Zn(BA-BDC)(dabco) _{0.5}] SURMOF zu SURGEL <i>via</i> Thiol-en Klick Reaktion.....	131
4.3.4 SURGEL Adsorptionsisothermen	134
4.3.5 Strukturierte Oberflächenfunktionalisierung des [Zn(BA-BDC)(dabco) _{0.5}] <i>via</i> Thiol-en Klick Reaktion.....	136
4.3.6 Zusammenfassung.....	137

5	Zusammenfassung	139
6	Anhang	142
6.1	Abkürzungsverzeichnis	142
7	Literaturverzeichnis	144
8	Publikationen	155
9	Danksagung	156

MOTIVATION

Die Herstellung dünner, homogener SURMOF Filme durch den 2007 entwickelten quasi-epitaktischen Schicht-für-Schicht Aufbau konnte in den letzten Jahren die Anwendungen der MOFs auf vielen Gebieten bereichern. Vor allem im Bereich von optischen, elektronischen oder sensorischen Bauteilen können homogene MOF-Dünnschichten sehr zur Steigerung der Leistungsfähigkeit und Effizienz beitragen.

Mit ihrer porösen Struktur, der Möglichkeit zur postsynthetischen Funktionalisierung durch die organischen Liganden und einstellbaren Filmdicke sind SURMOF Filme auch ideale Kandidaten für Anwendungen im biologischen Bereich. Die kontrollierte Einlagerung und Freisetzung von kleinen, biologisch aktiven Molekülen und das zusätzliche Anbringen von spezifischen Ankergruppen bieten eine ideale Plattform für eine gesteuerte Zelladhäsion, Migration und Proliferation. Um dieses Ziel erreichen zu können, müssen eingangs einige Hindernisse hinsichtlich der Stabilität der SURMOF Filmen in wässrigen und proteinhaltigen Medien überwunden werden. Dies konnte 2013 in Arbeiten von Manuel Tsotsalas erreicht werden, der durch das Quervernetzen der organischen Liganden mit multifunktionellen Sekundärlinkern eine zusätzliche Stabilität des Gerüsts erreichen konnte, so dass nach dem Herauslösen der Metallionen ein polymeres, poröses und biokompatibles Gel (SURGEL) entsteht.

Die Herstellung neuartiger Biomaterialien etwa für Knochenimplantate, die nicht nur inert im Körper verbleiben, sondern aktiv an einer Osteointegration des Materials beteiligt sind, stehen zur Zeit im Fokus der regenerativen Medizin. Dafür werden neue biomimetische Materialien benötigt, die der natürlichen Umgebung der Zellen ähneln und Aufgaben der extrazellulären Matrix (ECM) übernehmen. Neben physikalischen Reizen wie Topologie und Elastizität können auch chemische Signale wie Oberflächenfunktionalisierung und die Freisetzung von kleinen Molekülen das Anwachsverhalten der Zellen auf einem Material steuern und beeinflussen. Die Schicht-für-Schicht Synthese des SURMOFs und anschließende Gel-Konvertierung erlaubt die Beschichtung von dreidimensionalen Objekten und ist daher als bioaktive Schicht zwischen Implantat und Gewebe denkbar.

Bis zum Erreichen dieses Ziels sind allerdings noch einige Hürden zu nehmen, da die Entwicklung des SURGELS noch ganz am Anfang steht. Daher bestand meine Aufgabe in einer grundlegenden Optimierung verschiedener Parameter, die für dieses Ziel maßgeblich sind. Die Weiterentwicklung des SURGEL Ansatzes auf verschiedene Substratmaterialien, die Optimierung der Wechselwirkungen des SURGELS mit knochenbildenden Zelltypen wie mesenchymalen Stammzellen (MSCs) und Osteoblasten, sowie die Einlagerung und Freisetzung von Molekülen in die Poren des Gels sind das Ziel dieser Arbeit.

Im Rahmen eines von mir bearbeiteten Projekts wurden mehrlagige, funktionelle SURGEL Kapseln auf magnetischen Nanopartikeln entwickelt. Durch die Änderung der umgebenden Lösung zu höheren pH Werten wird ein Quellen der SURGEL Kapseln induziert und damit die Freisetzung eingelagerter Stoffe auslöst. Dieser Modelmechanismus zeigt die Möglichkeit des Einsatzes der SURGEL Kapseln zur Wirkstofffreisetzung bei einer oralen Medikamenteneinnahme. Die saure Umgebung des Magens ist oft nicht die ideale Umgebung für Medikamente, durch die schützende SURGEL Schicht können die Kapseln unbeschadet in den Darm weitertransportiert werden und erst dort, durch die basische Umgebung ausgelöst, freigesetzt werden.

Zugleich wurden Toxizitätsstudien der SURGEL Membranen mit den knochenbildenden MSCs und der Osteoblasten-ähnlichen Zelllinie CAL-72 durchgeführt. Anschließend wurden die SURGELs mittels postsynthetischer Modifikation mit der aus der ECM bekannten Aminosäuresequenz Arginin-Glycin-Asparaginsäure (RGD) funktionalisiert. RGD ist ein in der natürlichen Umgebung der Zellen vorkommendes Adhäsionspeptid, das die Zellen mithilfe der in der Zellwand angesiedelten Integrine an die ECM koppelt. Dadurch konnte eine verbesserte Zellanbindung an die SURGEL Membran erreicht werden.

Der dritte Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der molekularen Variabilität der SURGELs. Durch die Verwendung von SURMOFs als Templat-Strukturen für die anschließende Konvertierung zu den SURGELen können alle Vorteile der SURMOF-Materialien genutzt werden. Diese liegen vor allem in deren großer struktureller Vielfalt, der permanenten Porosität und der einstellbaren Porengröße und Poreneigenschaften. So konnten die Familie der SURGEL-Materialien in dieser Arbeit durch die Verwendung unterschiedlicher SURMOF Templat-Strukturen um einige Mitglieder erweitert werden, die nicht durch die bisher verwendete Azid/Alkin Klick-Reaktion, sondern durch die UV-Licht induzierte Thiol-en Klick-Reaktion hergestellt wurden. Die chemischen und mechanisch veränderten Eigenschaften und die Möglichkeit der Strukturierung dieser neuen SURGEL Materialien sind hinsichtlich einer biologischen Anwendung sehr interessant, da die Zelladhäsion sowohl durch die Elastizität als auch die chemische Funktionalisierung der Oberfläche beeinflusst wird.

MOTIVATION

The synthesis of homogenous and oriented SURMOF thin films *via* a quasi-epitaxial layer-by-layer method, developed in 2007, paved the way for developments of MOF-devices in various fields. Especially for optical, electronic or sensor devices a homogenous thin layer of this porous, crystalline and multifunctional films can improve the performance and efficiency.

With their porous structure, the possibility of a postsynthetic functionalization of the organic ligands and the controllable film thickness, these SURMOF films seem to be ideal candidates for a biological cell-related application. With the controlled incorporation and release of small biological-active molecules and the additional attachment of specific anchor groups the SURMOF could operate as ideal platforms for guided cell adhesion, migration and proliferation. To accomplish this goal, drawbacks regarding the SURMOF stability in aqueous and protein containing solutions had to be overcome. This could be accomplished in 2013 by Manuel Tsotsalas, who used pre-functionalized azide- SURMOFs to crosslink them in a following step with a multifunctional alkyne crosslinker. Thereby the framework obtains an additional stability, so that the metal ions could be dissolved in the last step, resulting in a porous, polymeric and biocompatible gel (SURGEL).

The fabrication of new biomaterials for implants in for examples human bones, which not only act as an inert strut, but participate actively in the osteointegration of the material within bones, are the key focus of recent research regarding regenerative medicine. Therefore biomimetic materials are necessary, which resemble the natural cell environment and adopt functions of the extracellular matrix (ECM). Next to physical stimuli, such as topological or elastic features of the material, chemical stimuli such as surface functionalization and the release of small molecules can influence the adhesion behavior of cells on the respective material. The layer-by-layer approach of the SURMOF films and the subsequent SURGEL-conversion enable the coating of three-dimensional objects in a straightforward fashion, thus they are suitable for the application as a bio-active layer between implant and tissue.

To reach this goal certainly several obstacles have to be overcome, since the development of the SURGEL is still in its initial stages. Therefore the task of my thesis was the development of synthetic strategies to optimize key-parameters of the SURGELS, which are crucial for the achievement of this goal. The further development of the SURGEL approach on different substrates, the optimization of interactions of the SURGEL with different bone-forming cells, like mesenchymal stem cells (MSCs) and osteoblasts, as well as the incorporation and controlled release of molecules within the pores of the gel was the goal of this work.

With this in mind, multilayered stimuli responsive SURGEL capsules have been synthesized on magnetic particles, which can trigger a release of incorporated guest molecules through to a pH change of the external media by swelling and opening of the pores. This model-system shows the suitability of the SURGEL capsules for an application in oral drug medication. The acidic environment of the stomach is often not an ideal surrounding for drugs, through to the protecting SURGEL layer the drugs can be carried on to the intestine, where the increase of the pH triggers the release of the drugs.

Additionally toxicity studies have been carried out, using bone forming cell lines, like MSC and the osteoblast-like CAL-72 cells on the SURGEL-membrane. After verifying the cell-compatibility, thiol-functionalized RGD sequences have been attached to the surface via postsynthetic modification. RGD, an adhesion peptide occurring in the extracellular matrix, acts as a recognition sequence for the integrin proteins in the cell membrane. This modification improved the cell-adhesion on the SURGEL.

The last part of the thesis focuses on the molecular variability of the SURGELs. Through the SURMOF-template approach of the SURGEL conversion, all benefits coming with the SURMOF synthesis can be transferred to the gel-material. Of particular interests are the huge structural variety, the permanent porosity and the adjustable pore size and pore properties. In this work the family of the SURGEL materials could be supplemented by applying the thiol-ene click-reaction instead of the azide-alkyne click-reaction on different MOF-crosslinker combinations. The different chemical and mechanical properties of these new SURGEL materials, compared to the previously used alkyne-azide based SURGELs and the possibility of creating structured substrates are very interesting regarding biological applications, since the cell adhesion is influenced by both, the elasticity of the material and chemical functionalization of the surface.

1 EINLEITUNG

1.1 Metall-organische Gerüstverbindungen (MOFs)

Metall-organischen Gerüstverbindungen (MOFs aus dem englischen metal-organic frameworks)¹ sind seit etwa 20 Jahren bekannte Funktionsmaterialien. Der Aufbau dieser Materialien erfolgt durch die Verbrückung metallischer Knotenpunkten mit organischen Liganden. Ein selbstanordnender Prozess dieser beiden Komponenten führt zu der Bildung eines wohldefinierten Netzwerkes, bei dem der Abstand der Metallzentren und die Größe der von ihnen begrenzten Poren durch die eingesetzten organischen Liganden exakt eingestellt werden kann. Dadurch bilden sich kristalline, nanoporöse Strukturen, deren molekularer Aufbau durch die Symmetrie und Größe der eingesetzten Liganden und die Koordinationsumgebung der Metallzentren sehr variabel ist. Durch diese strukturelle und funktionelle Variabilität hat sich die Forschung auf dem Gebiet der MOF Forschung in den letzten Jahren zu einem der am schnellst wachsenden Gebieten der Chemie entwickelt.² So gibt es mittlerweile über 20000 MOF Strukturen, deren Porengröße zwischen 1 und 10 nm variieren und deren Oberfläche in der Größenordnung von 1000 bis 10000 m²/g, die von natürlichen porösen Materialien wie etwa Zeoliten um ein weites übersteigt³.

Die organischen Einheiten sind zwei- oder mehrwertige Carbonsäuren (oder andere nukleophile Endgruppen), die in einer Ligandenaustauschreaktion an die metallischen Zentren koordinieren. Durch die Multitopizität sowohl der organischen Liganden als auch der metallischen Zentren, bildet sich ein ausgedehntes Netzwerk aus (siehe Abb. 1).⁴

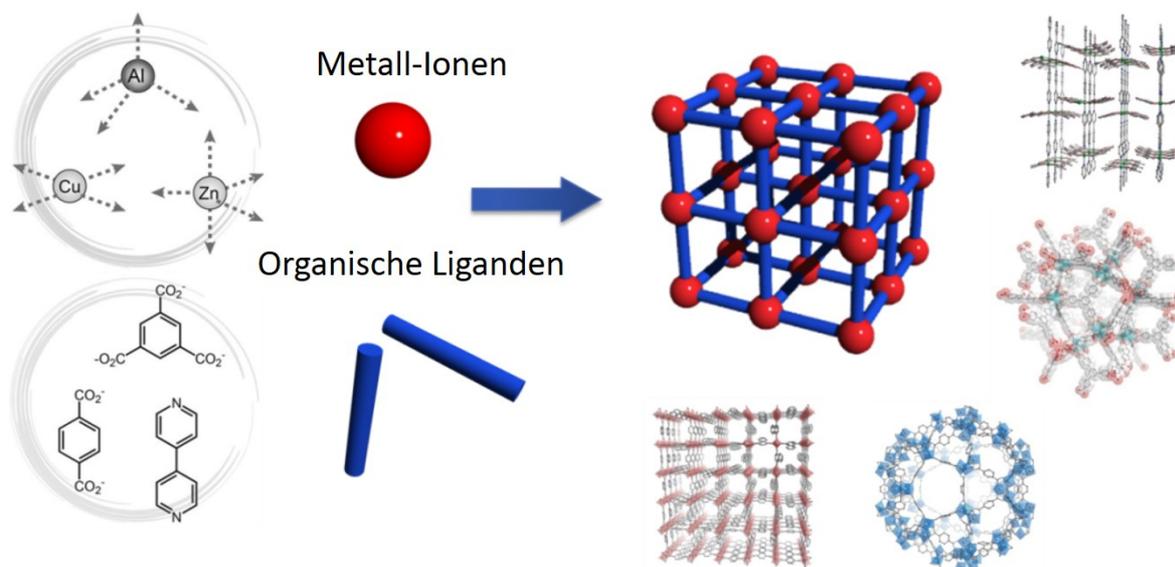


Abb. 1 Allgemeine Synthese verschiedener Metall-organische Gerüstverbindungen (MOFs) durch einen selbstanordnenden Prozess von metallischen Knotenpunkten mit organischen, verbrückenden Liganden. (Links) Beispiele von metallischen Ionen und organischen Liganden und (rechts) Beispiele von bekannten organischen Netzwerkverbindungen.

Für den thermodynamisch kontrollierten, selbstanordnenden Prozess der MOF Synthese wird die solvothermale Synthesemethode am häufigsten verwendet, wobei Metallionen und Liganden in Lösung erhitzt werden um die Bildung des Netzwerkes zu ermöglichen.⁵ Daneben stehen aber noch viele weitere Synthesemethoden bei Raumtemperatur⁶, unter elektrochemischen⁷ oder mechanochemischen⁸ Bedingungen zur Verfügung.

1.1.1 Terminologie und Entwicklung der MOFs

Obwohl MOFs nun schon seit 20 Jahren im Fokus der Forschung stehen, gibt es noch keine einheitlich anerkannte Begriffsdefinition dieser Stoffklasse. Der Begriff Koordinationspolymer wurde erstmals in den sechziger Jahren verwendet⁹. 1995 führte Yaghi den Begriff MOF erstmals bei der Beschreibung eines porösen und kristallinen $[\text{Cu}(4,4'\text{-bpy})1.5\cdot\text{NO}_3(\text{H}_2\text{O})_{1.25}]$ Netzwerkes ein.¹⁰ In der Literatur werden die Begriffe „Koordinationspolymer (CP)“, „poröses Koordinationspolymer (PCP)“ und „Metall-organische Gerüstverbindung (MOF)“ bis heute allerdings synonym verwendet.

Eine genauer eingrenzende Definition der MOFs, beschreibt Yaghi 2004 mit dem Vorhandensein von starken Bindungen, die eine Robustheit des Materials garantieren, Liganden, die für eine Modifikation durch organische Synthese zur Verfügung stehen und eine geometrisch klar definierte, starre und kristalline Struktur mit permanenter Porosität ergeben¹¹.

Die oben erwähnte permanente Porosität ist eine der herausragenden Eigenschaften der MOFs, die vor deren Entwicklung nur von rein anorganisch aufgebauten Materialien bekannt war. Susumu Kitagawa veröffentlichte 1997 eine Studie über die Gasadsorptionskapazitäten verschiedener $[M_2(4,4'\text{-bpy})_3(\text{NO}_3)_4] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ($M=\text{Co}, \text{Ni}, \text{Zn}$) Netzwerke, wobei er erstmals die reversible Adsorption von CH_4 , N_2 und O_2 zeigen konnte.¹² Damit konnte er entgegen der bis dahin gängigen Meinung zeigen, dass MOFs nicht etwa fragile Gerüste sind, sondern durchaus für die Anwendung geeignet sind. In den folgenden Jahren konnte durch die Variabilität der organischen Linkermoleküle und der metallischen Zentren viele verschiedene Struktur motive, darunter sowohl 1D-¹³, 2D-¹⁴ als auch 3D-Strukturen¹⁵ beschrieben werden. Die Entwicklungen der MOF-Forschung fasste Susumu Kitagawa 2004 in einem Übersichtsartikel zusammen, in dem er mit über 400 zitierten Artikeln das rasante Wachstum auf diesem Gebiet verdeutlichte.¹⁶ Die Gruppe um Prof. Kitagawa befasste sich vor allem mit der Untersuchung von flexiblen MOF Strukturen und der reversiblen Veränderung des Gitters bei Einlagerung von Gastmolekülen¹⁷, Bestrahlung mit Licht oder Änderungen des elektrischen Feldes. Diese flexiblen MOF Strukturen bezeichnet er in dem oben erwähnten Review als MOFs der dritten Generation. Die starren, permanent porösen Verbindungen, die in Omar Yaghi's Definition beschrieben werden, werden von Kitagawa als MOFs der zweiten Generation definiert.

Die dritte Person, die die frühe Forschung der MOFs im Wesentlichen beeinflusst hat, ist Gerard Férey, der eine Reihe von MOF Strukturen beschrieb, die er mit dem Kürzel MIL (Material Institut Lavoisier) kennzeichnete.¹⁸ Somit gehört er, wie auch Omar Yaghi und Susumu Kitagawa zu den Gründungsvätern der MOFs. Durch den Ansatz der SBU (aus dem Englischen, Secondary Building Unit), der in Kapitel 1.1.2 näher erläutert wird, gelang es ihm über 150 neue MOF Strukturen zu synthetisieren, wobei er viele neue Metalle in verschiedenen Oxidationsstufen zur MOF-Synthese verwenden konnte. Außerdem entdeckte er 2002, etwa zeitgleich zu den Arbeiten Kitagawas, das flexible Verhalten von MOFs anhand des dreidimensionalen Cr(III)-Dicarboxylates MIL-53.¹⁹

1.1.2 Aufbau und Design von MOFs

Bei dem Design neuer MOF Strukturen, gibt es im Wesentlichen zwei Schlagworte, die beachtet werden sollten. Das sind zum einen das Konzept der „Secondary Building Unit“ (SBU) und zum anderen die „retikuläre Chemie“ der MOFs. Beide sollen im folgenden Abschnitt näher erläutert werden.

Yaghi, der ursprünglich aus dem Bereich der Zeolithchemie kommt, übernahm den dort üblichen Begriff der „Secondary Building Unit“ (SBU) für die Beschreibung des Aufbaus der MOFs. In seiner Beschreibung führt die Verwendung von mehrzähligen Liganden, wie

Carbonsäuren, durch ihre Fähigkeit mehrere Metallionen zu M-O-C Clustern (SBUs) zu Verbrücken, zu starren Netzwerkverbindungen.⁴ Die SBU ist also die kleinste, periodisch wiederkehrende Struktureinheit im MOF und unterscheidet sich von dem zur Reaktion eingesetzten Metallcluster. Die SBU kann je nach Konfiguration der Metallionen unterschiedliche Anzahl von Koordinationszahlen und Geometrien aufweisen (siehe Abb. 2). Da die Metallionen durch die koordinierenden Carboxylat-Liganden in Position gehalten werden, sind die dadurch aufgebauten erweiterten Netzwerke mit einer sehr hohen strukturellen Stabilität ausgestattet.

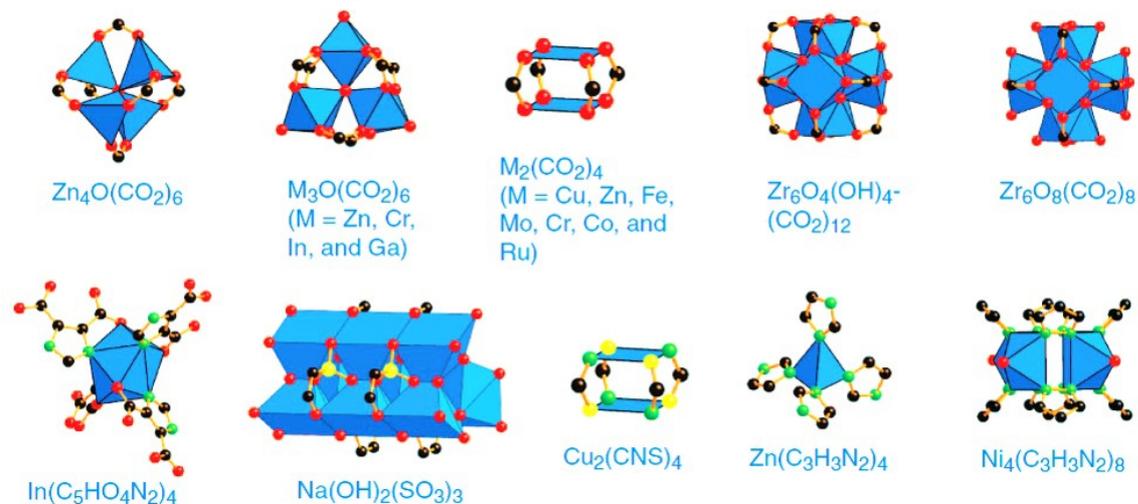


Abb. 2 Beispiele von Secondary Building Units (SBUs) aus verschiedenen bekannten MOF Strukturen. Die Metallionen werden durch multidentale, verbrückende Liganden zu Clustern koordiniert.³

Das Konzept der SBU als Grundbaustein eines MOFs gestattet nun das direkte Design und die Vorhersage neuer Strukturen.²⁰ Die im Gerüst vorhandene SBU ist, wie oben erwähnt, nicht der in der Synthese eingesetzte Metallcluster, sondern wird während der Synthese *in-situ* aus dem Metallion und den Linkern gebildet.²¹ So konnten Yaghi und seine Mitarbeiter durch Veränderung der Reaktionsbedingungen mit BTC und $Zn(NO_3)_2$ gezielt die *in-situ* Synthese verschiedener SBUs für ein-, zwei- bzw. dreidimensionale Netzwerke erreichen.²²

Ein häufig auftretendes Strukturmotiv ist die sogenannte „paddle wheel“ Struktur oder $M_2(CO_2)_4$ - SBU (siehe Abb. 2), wobei zwei Metallionen ein Dimer ausbilden, was von vier koordinierenden Carboxylaten verbrückt wird. Zusammen mit dem axial koordinierenden Lösungsmittelmolekül, ergibt sich für jedes Metallzentrum eine quadratisch pyramidale Koordinationsphäre. Die quadratisch-planare Geometrie der Liganden führt zu der Bildung von zweidimensionalen Ebenen, die untereinander nur durch, von Lösungsmitteln übermittelte schwache Wechselwirkungen zusammengehalten werden. Zum ersten Mal wurde dieses Strukturmotiv in der $Zn(BDC)$ Struktur als MOF-2 beschrieben.²³ Ersetzt man die zweizähligen Benzoldicarbonsäure (BDC) durch

Benzoltricarbonsäure (BTC), erhält man durch die zusätzlichen Verknüpfungsstellen ein dreidimensionales Gitter, welches unter dem Namen HKUST-1 bekannt ist.¹⁵

Die Flexibilität der von Kitagawa als MOFs der dritten Generation beschriebenen Netzwerke lässt sich ebenfalls durch die Eigenschaften der SBUs erklären und vorhersagen. So weist etwa die $\text{Cu}_2(\text{CO}_2)_4$ -SBU, ebenfalls eine Paddle-Wheel Struktur, durch die d^9 -Konfiguration des Cu(II)-Ions eine Jahn-Teller-Verzerrung auf, also eine Streckung des Koordinationsoktaeders in z-Richtung. Dadurch ist der monodentale, axial stehende Ligand schwächer koordiniert, was zu einer Beweglichkeit um die z-Achse und somit zu einer Flexibilität des Netzwerkes führt.¹⁶

Das zweite wichtige Konzept beim Design neuer MOF-Strukturen ist das der retikularen Chemie. Den vor allem von O'Keeffes vorangetriebenen Arbeiten liegt die Erkenntnis zugrunde, dass sich viele MOF Strukturen als gedehnte Versionen von dichter gepackten Strukturen darstellen lassen. So konnten O'Keeffe und Yaghi durch Wahl der Linkermoleküle elf Homologe der MOF-5 Struktur synthetisieren.²⁴ Die SBU von MOF-5 ist ein $\text{Zn}_4\text{O}(\text{CO}_2)_6$ Cluster, bei dem die Zn-Atome oktaedrisch angeordnet sind und von einem zentralen Sauerstoffatom und sechs verbrückenden Carboxylat-Liganden koordiniert werden. Das Gerüst lässt sich als eine Struktur von über die Ecken verknüpften Oktaedern darstellen. Durch die Variation der verbrückenden linearen Linker kann das Netzwerk der Oktaeder erweitert werden (siehe Abb. 3).

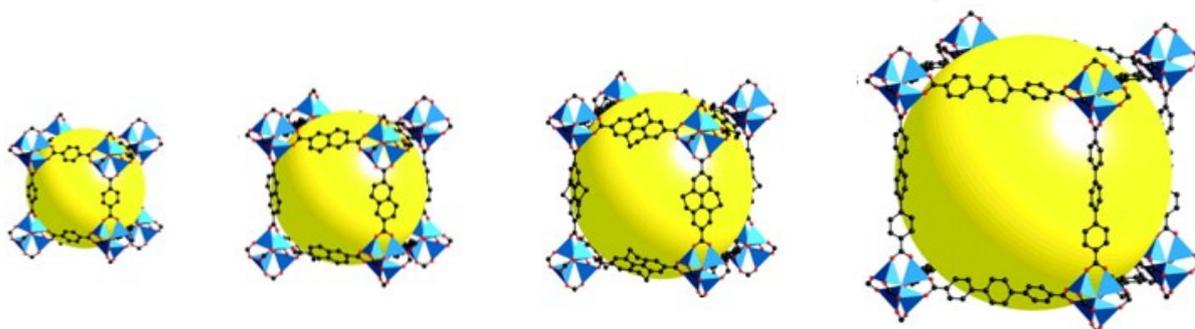


Abb. 3 Verdeutlichung des Prinzips der Aufweitung von Netzwerken anhand verschiedener Homologen der MOF-5 Struktur.²⁴

Die Reihe an MOF-5 Homologen wurde von der Yaghi-Gruppe als IRMOFs (Isorecticular Metal Organic Frameworks) bezeichnet. MOF-5, das erste Glied dieser Reihe wurde daraufhin zu IRMOF-1 umbenannt. Diesem Konzept folgend, konnten in den nächsten Jahren viele weitere MOF Strukturen entwickelt werden.²⁵

1.1.3 Eigenschaften und Anwendungen von MOFs

Durch ihre poröse Struktur ist das Hauptanwendungsgebiet der MOFs bis heute die Gasspeicherung und -separation. Kommerzielles Interesse und somit ein großer

Forschungsbedarf existiert vor allem in den Bereichen der CO₂ und CH₄ Speicherung.^{26,27} Eine der Grundvoraussetzungen für eine breite industrielle Anwendung von Materialien ist eine gute thermische und chemische Stabilität. Die MOFs weisen durch ihren Aufbau auf Grund der starken Bindungen wie C-C, C-O, M-O eine gute thermische Stabilität von etwa 200 °C und in Einzelfällen bis zu 500 °C auf. Besonders die Reihe der UiO (University of Oslo) benannten MOFs weisen eine erstaunlich hohe thermische Stabilität auf.²⁸ Eine ausreichend chemische Stabilität zu erreichen ist bis heute noch eine der großen Herausforderungen der MOF Forschung. Da die meisten MOFs aus reversiblen M-O Bindungen aufgebaut sind, können die verbrückenden Liganden nach längerer Lagerung in einer Ligandenaustauschreaktion von nukleophilen Lösungsmittelmolekülen ersetzt werden. Allerdings zeigt die Reihe der 2006 veröffentlichten „Zeolitic imidazolate framework“ (ZIF)-MOFs eine erstaunlich gute chemische Stabilität.²⁹ So ist ZIF-8 Zn(Mim)₂ – (Mim – 2-Methylimidazol) für 24 h in kochender, konzentrierter Natriumhydroxid Lösung stabil.

Die herausragenden Eigenschaften der MOFs, nicht nur die überragende Porosität, sondern darüber hinaus auch die schon zuvor beschriebene strukturelle Vielfalt sowie die Elastizität und Flexibilität der Netzwerke, eröffnet neben der Gasseparation noch viele weitere Anwendungsgebiete. Kombiniert mit einer hohen chemischen und thermischen Stabilität lassen sich daraus Anwendung in den Bereichen Medizin³⁰, Katalyse³¹ oder Sensorik³² realisieren. Zusätzlich dazu stehen die organischen Linkermoleküle für eine postsynthetische Modifizierung (PSM) zur Verfügung. Verwendet man Linker mit einer reaktiven Seitengruppe, lassen sich diese anschließend im Netzwerk weiter funktionalisieren. Die Gruppe um Seth Cohen konnte auf diesem Gebiet eine erhebliche Anzahl an neuen Strukturen synthetisieren. Eine Übersicht über die bis dahin erreichten Ergebnisse auf dem Gebiet der PSM, fasste Cohen 2011 in einem Review Artikel zusammen.³³ Diese vielschichtigen Möglichkeiten, die Chemie der MOF-Netzwerke zu variieren führt zu vielen neuen Anwendungsgebieten, einschließlich Fluoreszenz³⁴, Leitfähigkeit³⁵ und Magnetismus³⁶.

Für viele Anwendungen werden MOFs als funktionale Schichten in elektrischen oder optischen Bauelementen verwendet. Die Verarbeitung von Pulver-MOF Materialien zu homogenen, dünnen Filmen aus Suspensionen in organischen Lösungsmitteln heraus, ist durch die kristalline Form der MOFs sehr schwer. Daher wurden viele verschiedene Methoden entwickelt die Synthese der MOFs als dünne Schichten direkt auf der Oberfläche von festen Substraten durchzuführen. Das diese Dünnschichten immer mehr in den Fokus der anwendungsorientierten Forschung treten, zeigen einige Reviews, die sich mit den potentiellen und tatsächlichen Anwendungen von oberflächengebundenen MOF Strukturen in optischen, elektronischen oder sensorischen Bereichen befassen.^{37,38}

1.2 Oberflächengebundene Metall-organische Gerüstverbindungen (SURMOFs)

Wie schon im vorherigen Abschnitt angedeutet, führt die Verarbeitung von kristallinen MOF Pulvern aus einer Suspension heraus zu inhomogenen und rauen Oberflächenbeschichtungen. Für viele Anwendungen sind jedoch sehr dünne, homogene oder sogar orientierte, kristalline Filme mit einer definierten Dicke und Rauigkeit erwünscht. Daher gibt es in der Zwischenzeit eine Vielzahl an verschiedenen Verfahren, die Synthese der MOF-Kristalle direkt auf der Oberfläche durchzuführen. Im folgenden Abschnitt wird eine kurze Übersicht der verschiedenen Methoden gegeben.

1.2.1 Verarbeitungsmethoden oberflächengebundener MOF Netzwerke

Die Spanne der Beschichtungsmethoden von festen Substraten mit MOF-Filmen reicht von eher simplen Methoden, bis hin zu sehr komplexen Verfahren. Die Gruppen um Paolo Falcaro und Thomas Bein beschäftigen sich mit der direkten Kristallisation von MOFs auf Oberflächen aus einer filtrierten Mutterlauge³⁹, wobei Thomas Bein ein von der Funktionalisierung der Substrate abhängiges orientiertes MOF Wachstum zeigen konnte.⁴⁰ Férey stellte 2009 eine Methode vor, bei der durch das Eintauchen von Substraten in eine zuvor hergestellte Lösung aus kolloidalen MOF-Partikeln ein geschlossener MOF-Film mit nur etwa 3 nm Rauigkeit hergestellt werden konnte.⁴¹ Weitere Ansätze für die Herstellung dünner MOF-Filme wurden von Hiroshi Kitagawa *et al.* publiziert, die durch ein Langmuir-Blodgett basiertes Schritt-für-Schritt Auftragen von 2D Filmen, das orientierte Wachstum verschiedener Cu(II) und Co(II) basierter MOFs zeigen konnten.⁴²

Eine sehr elegante Methode der Synthese von oberflächengebundenen Metall-organischen Gerüstverbindungen (SURMOF - aus dem englischen Surface Mounted Metal-Organic Frameworks) wurde 2007 von Roland Fischer und Christof Wöll entwickelt.⁴³ Bei dem quasi-epitaktischen Schritt-für-Schritt (LbL - aus dem Englischen, Layer-by-Layer) Wachstum, werden funktionalisierte Substrate abwechselnd in die Metallionen Lösung und die Linkerlösung getaucht, wobei durch zwischenzeitliches Spülen bei jedem Schritt nur eine Monolage an Molekülen aufwächst. Diese Methode führt zu kristallinen, orientierten, homogenen und qualitativ hochwertigen SURMOF-Filmen.⁴⁴ Die Voraussetzung für ein orientiertes Wachstum auf der Oberfläche ist die vorherige Funktionalisierung des Substrates, um eine koordinative Anbindung der ersten Schicht Metallionen zu ermöglichen.

1.2.1.1 Funktionalisierung der Substrate

Als Substrate für die Flüssigphasen LbL Methode werden meist Einkristall-Siliziumwafer verwendet, die mit einer 150 nm dicken (111) orientierten Gold Schicht bedampft werden. Für die mit Gold beschichteten Substrate werden die funktionellen Ankergruppen mittels selbstassemblierenden Monolagen (SAMs) auf die Oberfläche aufgebracht. Für die Herstellung von SAMs wird das Substrat in eine Lösung von organischen, linearen Molekülen getaucht, die sich in einem selbstanordnenden Prozess zu einer nahezu perfekten Schicht auf der Oberfläche anlagern. Dafür tragen sie auf einer Seite eine Kopfgruppe, die eine starke Affinität zu der verwendeten Substratoberfläche aufweist. Für Gold beschichtete Oberflächen werden dafür langkettige Alkanthiole verwendet, da Thiole eine starke Affinität zu den Münzmetallen besitzen.⁴⁵ Für Silizium Substrate werden dagegen Silan-SAMs eingesetzt. Die Gold-Schwefel Bindung ist mit einer Größenordnung von etwa 100 kJ/mol bis zu relativ hohen Temperaturen und in vielen Lösungsmitteln stabil. Die langkettigen Alkanthiole sind auf der dem Gold abgewandten Seite mit der gewünschten funktionellen Gruppe ausgestattet, um die erste Lage der SURMOFs zu koordinieren. Für das Wachstum der durch die $M_2(CO_2)_4$ ($M=Cu, Zn$) Paddle-Wheel SBU aufgebauten SURMOFs wird als endständige Gruppen entweder eine bidentale Carbonsäure Gruppe oder die monodentale Hydroxy- bzw. Aminogruppen eingesetzt. Je nach verwendetem SAM kann, wie in Abb. 4 gezeigt, die Wachstumsorientierung der SURMOFs beeinflusst werden.⁴⁶

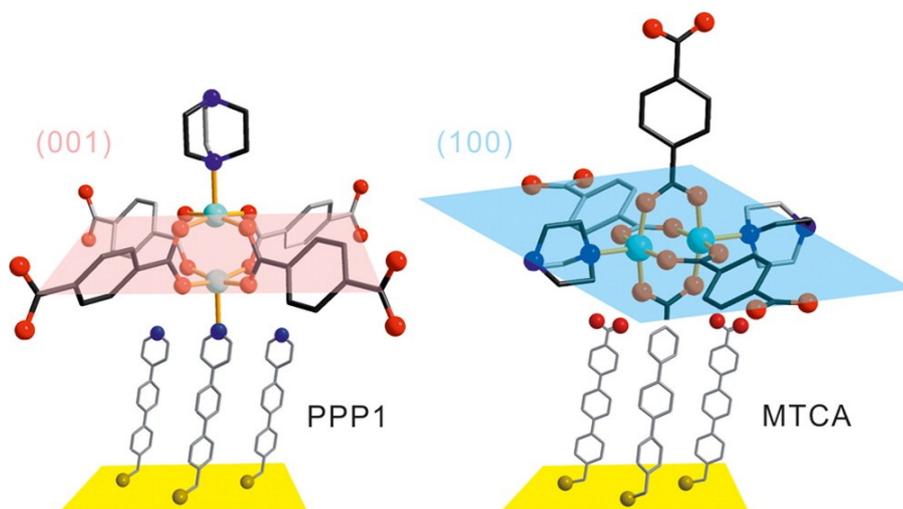


Abb. 4 Schematische Darstellung der Ausrichtung des Metallkomplexes (Secondary Building Unit (SBU)) eines MOFs abhängig von der endständigen funktionellen Gruppe der SAMs.⁴⁶

Verantwortlich für die Wachstumsorientierung im MOF ist die Ausrichtung der weiter oben diskutierten Secondary Building Units, das heißt schon die Ausrichtung der ersten Monolage an Metallkomplexen bestimmt die Orientierung des ganzen Films. Für die in dieser Arbeit verwendeten SURMOF-Systeme werden als Quelle der Metallionen

Kupfer-, bzw. Zinkacetat eingesetzt. Beide Komplexe bilden in Lösung *in-situ* die Paddle-Wheel Struktur $M_2(CO_2)_4$ aus, wobei aus zwei Metallionen ein Dimer gebildet wird. Die in einer quadratisch pyramidalen Umgebung koordinierten Metalle sind an den äquatorialen Positionen von je vier verbrückenden Carboxylgruppen koordiniert. An der axialen Position kann ein weiterer monodentaler Ligand koordiniert werden. Dies kann je nach Struktur, entweder ein Lösungsmittelmolekül oder ein monodentaler-multitoper N- oder O-Donor sein (pillared-layered-MOFs).⁴⁷ SAMs, die -OH oder -NH terminiert sind, nehmen somit die axiale Position ein und dirigieren das Wachstum des MOFs in [001] Richtung (siehe Abb. 4). Wählt man einen -COOH terminierten SAM, wird die bidentale Carboxylgruppe die verbrückende, äquatoriale Position einnehmen und das Wachstum des SURMOFs in [100] Orientierung dirigieren.

Wie von Liu *et al.* gezeigt werden konnte, ist die Wachstumsorientierung nicht nur von der Art der Terminierung, sondern auch von der Dichte der vorhandenen funktionellen Gruppen abhängig. So wächst HKUST-1 auf einem MHDA-SAM (16-mercaptoundecanoic acid) mit dicht gepackten COOH Gruppen in [100] Orientierung, während es auf einem CMMT-SAM (9-carboxy-10-(mercaptomethyl)triptycene) mit einer deutlich geringeren Dichte an COOH Gruppen in [111] Orientierung wächst.⁴⁸ Die Autoren vermuten, dass dies an der Dichte der Koordinationsstellen in der jeweiligen Ebene, so hat die (100) Ebene eine höhere Dichte an Koordinationsstellen und passt somit besser zu der mit dem MHDA-SAM funktionalisierten Oberfläche, wohingegen die CMMT funktionalisierte Oberfläche besser zu der (111) Ebene passt.

1.2.1.2 Schritt-für-Schritt (LbL) Synthese der SURMOFs

Das Prinzip der Schritt-für-Schritt Synthese für Mehrschichtsysteme geht zurück auf Arbeiten aus dem Jahr 1937 von Irvin Langmuir und Katherine Blodgett.⁴⁹ Dabei wurden Monolagen von Bariumstearat von einer Wasseroberfläche auf ein Substrat übertragen. 1988 nutzte die Gruppe um Mallouk dieses Verfahren um in einem Zweischnitt-Verfahren durch abwechselndes Eintauchen eines funktionalisierten Substrates in eine Zirkoniumionen Lösung und eine Phosphonsäure-Lösung, eine metallorganische Beschichtung der Oberfläche zu erreichen.⁵⁰ Ein ähnlichen aber durch ionische Kräfte gesteuerten Prozess beschrieben Decher *et al.* 1997 mit der Herstellung von Multilagen von Polyanionen und Polykationen auf einer funktionalisierten Substratoberfläche.⁵¹ Die Weiterentwicklung dieses Prozesses für die SURMOF Synthese und verschiedene Aspekte der MOF-Oberflächenchemie wird von Zacher *et al.* in einem ausführlichen Review Artikel diskutiert.⁵²

Im Gegensatz zu den herkömmlichen Synthesemethoden der MOFs, bei denen beide Reaktionspartner in einer homogenen Mischung vorgelegt und erhitzt werden,

werden die Reaktionspartner bei der LbL-SURMOF Synthese strikt voneinander getrennt. Die Synthese basiert auf einer quasi-epitaktischen Flüssigphasen Methode. Das, wie im vorherigen Abschnitt beschriebene, funktionalisierte Substrat wird im ersten Schritt in eine Lösung aus $[\text{Cu}_2(\text{CO}_2)_4]$ in Ethanol getaucht, um die Koordination der ersten Schicht zu ermöglichen. Das gründliche Reinigen des Substrates nach diesem ersten Schritt zum Abwaschen der nicht chemisorbierten Kupferacetat Einheiten führt zu einer auf der Oberfläche koordinierten Monolage an $[\text{Cu}_2(\text{CO}_2)_4]$ -Komplexen. Im zweiten Schritt wird das Substrat in eine Lösung des organischen, multitopen Linkermoleküls gegeben und anschließend wiederum gründlich gespült. Durch die Wiederholung dieses Zweischrittverfahrens wird der SURMOF-Film Lage-für-Lage auf die Oberfläche aufgebracht, was zu einem gleichmäßig homogenen und orientiert kristallinen Film führt (siehe Abb. 5).

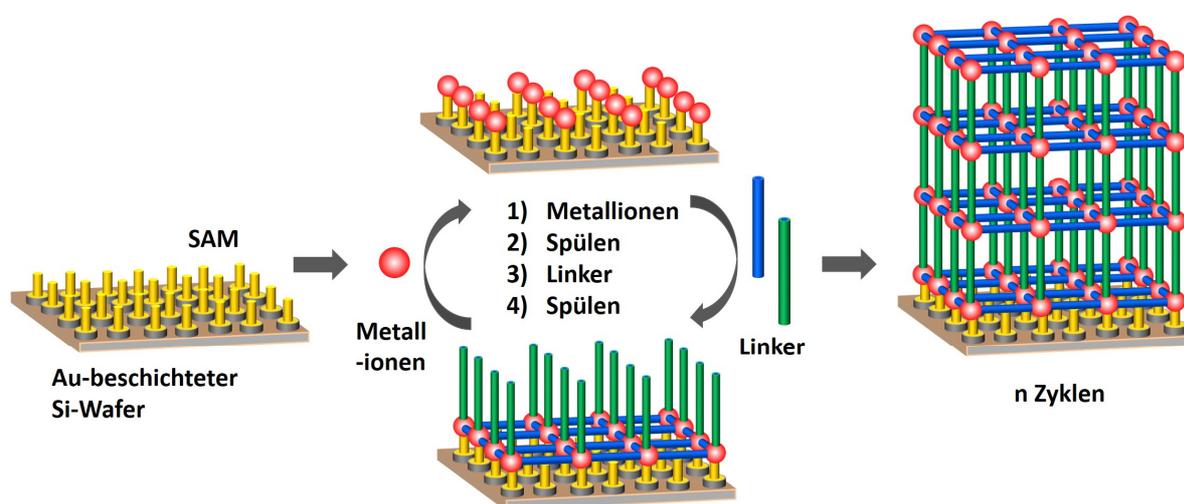


Abb. 5 Schematische Darstellung des Schritt-für-Schritt Wachstums der SURMOF Synthese. Das funktionalisierte Gold-Substrat wird im ersten Schritt in eine Metallionen Lösung gegeben, anschließend nach gründlichem Spülen in die organische Linkerlösung. Durch Wiederholung dieser beiden Schritte, erhält man einen homogenen, kristallinen SURMOF-Film.⁴³

Seit der Entwicklung der ursprünglichen SURMOF-Synthese *via* Eintauchen der Substrate per Hand, wurden viele weitere Techniken entwickelt um die Qualität und Effizienz der SURMOF Synthese zu verbessern. Vor allem in der Gruppe von Christof Wöll wurden viele neue Prozesse entwickelt, unter anderem eine Pumpenmethode, bei der die Substrate in einer beheizbaren Kammer liegen und mit den jeweiligen Lösungen mit separat steuerbaren Pumpen mit den unterschiedlichen Lösungen überschichtet werden.⁵³ Für die Synthese von dickeren Filmen und größeren Substraten wurde ein Sprühverfahren eingeführt, bei dem die Lösungen abwechselnd auf das senkrecht angebrachte Substrat gesprüht werden.⁵⁴ Auch die *in-situ* Synthese in einer Quarzkristall-Mikrowaage (QCM aus

dem Englischen, quartz crystal micro-balance)⁵⁵ oder ein neu entwickeltes robotergesteuertes Tauchverfahren bietet Möglichkeiten für vielseitige Beschichtungsmethoden. Die für diese Arbeit verwendeten Synthesemethoden werden ausführlich in Kapitel 3.4.1 bei der experimentellen Durchführung beschrieben. All diese Synthesemethoden können mittlerweile auf verschiedene Substrate angewandt werden. Nicht nur Silizium und mit Gold beschichtete Siliziumwafer können als Substrate verwendet werden, auch Glas, Glimmer und Kunststoffsubstrate konnten erfolgreich mit SURMOF beschichtet werden. Die bisher auf flache Oberflächen beschränkte Methode des Schritt-für-Schritt Wachstums wurde 2012 von Martin Silvestre *et al.* auf funktionalisierte Nanopartikel ausgeweitet.⁵⁶ Die Synthesemethode der Partikel erfolgt ähnlich wie die der flachen Substrate und wird im folgenden Kapitel näher beschrieben.

1.2.2 MOF-Beschichtung von magnetischen Nanopartikel (magMOFs)

Martin Silvestre konnte zeigen, dass die Anwendung der Schritt-für-Schritt Synthese nicht auf zweidimensionale Oberflächen beschränkt ist, sondern auch für dreidimensionale Strukturen verwendet werden kann. Am Beispiel von unter anderem HKUST-1, ZIF-8 und [Cu(bdc)] zeigt er die erfolgreiche LbL Synthese auf funktionalisierten, magnetischen Nanopartikeln.⁵⁶

Reges Interesse an dem Gebiet der MOF-Beschichtung von Nanopartikeln zeigen nicht nur seine Arbeiten, sondern auch die anderer Gruppen. So wurden Beispiele von mit MOF beschichteten metallischen Nanopartikeln, unter anderem von Junfa Zhu *et al.* publiziert. Sie konnten nach der MOF Beschichtung von katalytisch aktiven, goldhaltigen Nanopartikeln eine vergleichsweise höhere Aktivität zeigen als die der reinen Partikel.^{57,58} Gute sensorische Eigenschaften zeigen von Zhiyong Tang *et al.* entwickelte, mit MOF-5 beschichtete Edelmetall-Nanopartikel; die Au@MOF-5 Partikel weisen eine hohe spezifische Detektion von CO₂ auf.⁵⁹ Während die von Tang *et al.* hergestellten Partikel in einer Eintopfreaktion synthetisiert werden, werden die von der Gruppe um Zhu vorgestellten Partikel in einem Schritt-für-Schritt Verfahren hergestellt. Dadurch kann die Dicke und Homogenität der MOF-Schale mit Anzahl der Zyklen viel genauer eingestellt werden. Allerdings ist das Abtrennen und Zugeben der neuen Lösungen von den Nanopartikeln ein kompliziertes und langwieriges Verfahren, da die Partikel nach jedem Schritt mit der Zentrifuge abgetrennt werden müssen.

Die von Martin Silvestre entwickelte Synthese, wird auf COOH funktionalisierten Fe₃O₄-Nanopartikeln durchgeführt. Wie schon im vorherigen Absatz diskutiert, ist eine Funktionalisierung der Oberfläche für die Koordination der ersten Lage Metallionen unabdingbar, die Prozedur der Partikelfunktionalisierung wird in Kapitel 3.2.2 bei der experimentellen Beschreibung genauer diskutiert. Ein großer Vorteil bei der Verwendung

magnetischer Nanopartikel ist die vereinfachte Handhabung bei der Synthese. Während nichtmagnetische Partikel nach jedem Schritt in einem aufwendigen Verfahren mit der Zentrifuge abgetrennt werden müssen, können die magnetischen Partikel einfach mit einem Permanentmagneten von der Lösung separiert werden. Die Syntheseroute verläuft wie bei den zweidimensionalen Substraten über das abwechselnde Eintauchen der Partikel in die Metall bzw. Linkerlösung. Die genaue Synthesebeschreibung und die, für die jeweiligen MOF-Systeme verwendeten optimalen Bedingungen werden in Kapitel 3.4.2 beschrieben. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) Aufnahmen zeigen ein lineares Wachstum der magMOF Schicht mit Zunahme der Wachstumszyklen. In Abb. 6 ist ein Beispiel der magnetischen Fe_3O_4 - Nanopartikel nach der Beschichtung mit 10 Zyklen des UiO-67, einer Zirkonium / Biphenyldicarbonsäure [Zr(BPDC)]-Verbindungen gezeigt, nach 10 Zyklen ist eine UiO Schicht von etwa 10 nm Dicke zu erkennen. Ein zusätzlicher Beweis für die erfolgreiche Synthese ist der dazugehörige EDX (Energiedisperse Röntgenspektroskopie) Scan, auf dem die Konzentrationen der Eisen und Zirkoniumionen bei einem Schnitt durch den Core/Shell Partikel zu sehen ist.

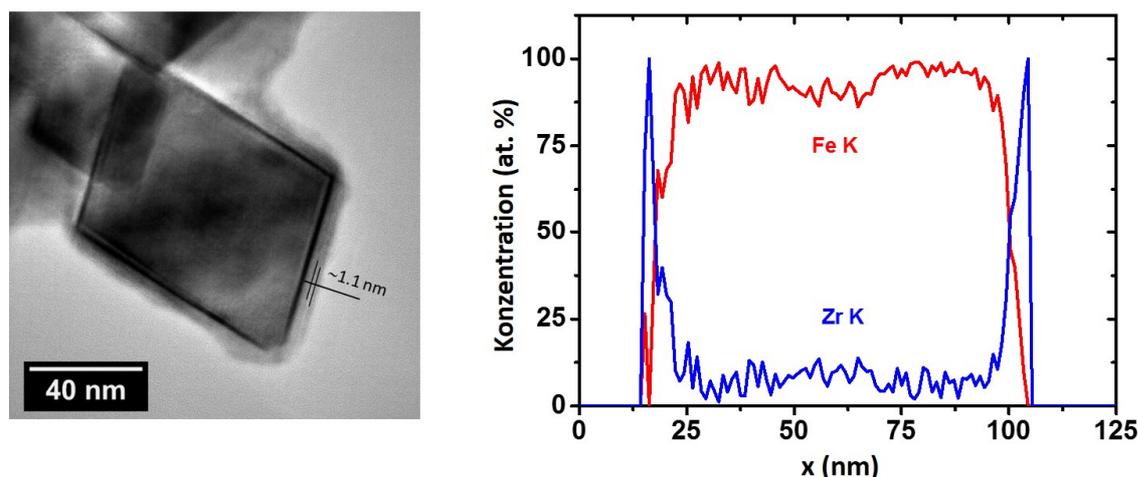


Abb. 6 TEM und EDX Messungen eines Fe_3O_4 Nanopartikels nach der Beschichtung mit 10 Zyklen UiO-67 mit der Schritt-für-Schritt Synthese. (Die Bilder stammen von eigenen Arbeiten für die Schritt-für-Schritt Synthese von UiO-67 auf magnetischen Nanopartikeln, für die spätere Separation verschiedener aromatischer Lösungsmittel via HPLC (high performance liquid chromatography)).⁶⁰

Die Schritt-für-Schritt Beschichtung von magnetischen Nanopartikeln mit funktionellen Materialien findet großes Interesse, nicht nur im oben aufgeführten katalytischen oder sensorischen, sondern vor allem auch im biomedizinischen Bereich. Magnetische Nanopartikel an sich werden bereits zur Krebstherapie eingesetzt,⁶¹ sie können in den Blutkreislauf überführt und durch ein extern angelegtes Magnetfeld zum Tumor geleitet werden.⁶² Dort angelangt werden die Partikel und somit das umgebende

Tumorgewebe mit einem alternierenden Magnetfeld erhitzt, durch diese sogenannte Hyperthermie sterben die Tumorzellen ab ohne das umliegende, gesunde Gewebe zu schädigen.⁶³ Erfolg versprechen die Hyperthermie-Therapien besonders in Kombination mit einer chemotherapeutischen Behandlung. Durch die Beschichtung dieser magnetischen Partikeln mit funktionalen Materialien, die mit Medikamenten beladen werden können und diese ganz gezielt im Tumorgewebe abgeben, kann der Effekt und die Wirksamkeit solcher Partikel basierten Therapien deutlich gesteigert werden.⁶⁴ In einem Review von 2013 diskutiert Caruso die Anwendung solcher, durch LbL Synthese beschichteter Nanopartikel im biomedizinischen Bereich. Er fokussiert sich auf die Synthese der Partikel, deren Aufnahme und Wirkungsweisen im Organismus und die therapeutische Anwendung und zeigt damit deren große Einsatz- und Wirkungsgebiete.⁶⁵ Die Anwendung von MOF-beschichteten Partikeln in der Biomedizin hat bisher noch keine breite Anwendung erfahren, da die MOFs durch ihre poröse Struktur zwar ideal für die Einlagerung von Wirkstoffmolekülen sind, die Beständigkeit der MOFs in biologischen Medien allerdings nicht über einen längeren Zeitraum gegeben ist.⁶⁶ Der Schlüssel zur Anwendung der MOFs für medizinische Zwecke ist also eine Verbesserung der Stabilität in proteinhaltigen und biologischen Medien. Dies gilt nicht nur für die hier diskutierten magMOFs sondern auch für die im vorherigen Kapitel beschriebenen Oberflächenfilme der SURMOFs. Der Schlüssel für die biologische Beständigkeit der MOFs liegt in deren Aufbau. Einige Ansätze zur Verbesserung der Wasserstabilität werden im nächsten Kapitel diskutiert.

1.2.3 Wasserstabilität und Biokompatibilität von MOFs

Die Wasserstabilität eines MOFs wird, wie schon in Kapitel 1.1.2 diskutiert, von der Stärke der Bindung des Metalls zum Elektronendonator des Liganden diktiert. Die Lewis-Säure-Base Koordinationsbindungen zwischen Metall und den Liganden bestimmt die Stabilität des Netzwerkes, daher kann der pK_s Wert der koordinierenden Gruppe des Liganden einen ersten Richtwert für die Stabilität eines MOFs liefern. Jeff Long konnte diese Theorie in einer Studie belegen, in dem er Stickstoff Heterozyklen mit unterschiedlichen pK_s Werten als Linkermolekül für die MOF Synthese verwendete und die steigende Stabilität des Gerüsts mit steigendem pK_s der Linkermoleküle zeigen konnte. So weisen die aus Pyrazol ($pK_a=19.8$) aufgebauten MOFs $[M_3(BTP)_2]$ (BTP = 1,3,5-tris(1H-pyrazol-4-yl)benzol) eine außergewöhnlich hohe Stabilität auf.⁶⁷ Somit lassen sich sowohl durch das Redoxpotential der eingesetzten Metallionen als auch der Stärke der als Liganden eingesetzten Lewis Basen die Stabilität des MOFs vorhersagen.⁶⁸ Eine starke Lewis Säure-Base Koordination im MOF führt zu einer hohen thermodynamischen Stabilität, so zeichnet

sich die Reihe der schon zuvor erwähnten Zeolitic imidazole frameworks (ZIFs) durch ihre extreme thermische (Stabil bis 550 °C) und chemische (7 Tage in kochender Natriumhydroxid Lösung) Stabilität aus. Der Aufbau der ZIFs erfolgt aus über Imidazol-Ringe ($pK_s=14.5$) verbrückte Zn- bzw. Co-Ionen. Die Struktur kann als über die Ecken verknüpfte ZnN_4 Tetraeder beschrieben werden. Die Autoren führen zwei Hauptgründe für die außerordentliche Stabilität auf: Erstens die hydrophoben Eigenschaften der Poren, die das Eindringen des Wassers verhindern und zweitens die starken Bindungskräfte zwischen Zn(II) bzw. Co(II) und dem N-Donor Liganden.²⁹ Eine weitere Gruppe von MOFs, die eine hohe chemische Stabilität aufweisen und die bisher das größte Potential für eine biologische Anwendung zeigen, ist die Gruppe der MIL (Material Institut Lavoisier) MOFs. Die von der Gruppe um Ferey entwickelten Materialien sind aus trivalenten Metallzentren aufgebaut, die durch multitope Carbonsäure Liganden verbrückt werden. Vor allem die 2007 entwickelten, aus Fe(III) aufgebauten MIL-100(Fe) und MIL-101(Fe), zeigen eine sehr gute Eignung für die biologische Anwendung.⁶⁹ Die Stabilität der MILs ist ebenso wie die der ZIFs auf die starken intramolekularen Wechselwirkungen, in diesem Fall die Eisen-Sauerstoff Bindung zurückzuführen, diese liegt mit etwa 407 kJ/mol deutlich höher als die Kupfer-Sauerstoff Bindung (287 kJ/mol).⁷⁰ Die Stabilität unter simulierten physiologischen Bedingungen (in simulierter Körperflüssigkeit – oder aus dem englischen simulated body fluid (SBF) bei 37 °C) wurde ebenso gezeigt wie die atoxischen Eigenschaften anhand der intravenösen Verabreichung verschiedener Dosierungen an Ratten (bis zu 220 mg/kg).⁷¹ Viele weitere Studien belegen die Eignung der MILs als „Drug Carrier Systeme“ durch Einlagerung von Wirkstoffen und deren Freisetzung im Organismus.^{30,72,73} Die in Abb. 7 gezeigte Freisetzung von Ibuprofen aus verschiedenen MOF Trägermaterialien unter simulierten physiologischen Bedingungen zeigt am Beispiel von MIL-101 eine beeindruckende Freisetzung von Ibuprofen von 1.4 Gramm pro Gramm MIL-101.⁷⁴

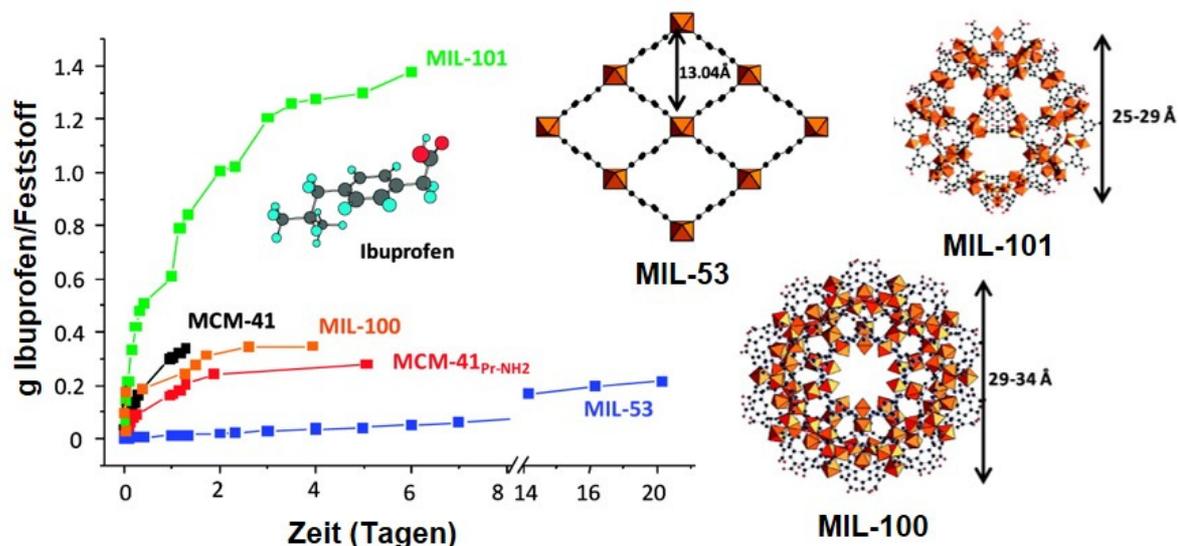


Abb. 7 Kinetik der Ibuprofen-Freisetzung von verschiedenen MOF-Trägermaterialien unter simulierten physiologischen Bedingungen. (Modifiziert übernommen aus⁷²)

In einem Review von 2011 mit über 300 Zitaten geben Serre und Mitarbeiter einen Überblick über die bis dahin gewonnenen Erkenntnisse der MOFs im Einsatz in der Biomedizin.⁷² Nicht nur die Fähigkeit zur Freisetzung von eingelagerten Wirkstoffmolekülen, sondern auch die Toxizität und Stabilität im menschlichen Organismus werden diskutiert. Eine weitere wichtige Rolle spielt die Form der Verabreichung. Während einige MOFs für die direkte intravenöse Verabreichung geeignet sind, muss bei der oralen Verabreichung von „drug carrier“ Systemen auch die mechanische und chemische Stabilität unter den bestimmten Bedingungen (etwa die saure Umgebung des Magens oder die basische Umgebung des Darms) gegeben sein. Diese mechanische Stabilität wird in aktuellen Studien durch das Pressen der MOFs in Pellet oder Tablettenform erreicht, wobei allerdings Bindemittel eingesetzt werden die im Idealfall vermieden werden sollten.⁷⁵

Die Möglichkeit der Schritt-für-Schritt Synthese, die ein Aufwachsen von SURMOF-Filmen nicht nur auf glatten Oberflächen, sondern wie in Kapitel 1.2.2 beschrieben auch auf dreidimensionalen Objekten wie Nanopartikeln, erlaubt auf einfache Weise eine Herstellung von mechanisch stabilen Partikel mit einer einheitlichen Größenverteilung ohne die Notwendigkeit von zusätzlichen Bindemitteln. Bei der Verwendung der SURMOFs im biologischen und biomedizinischen Bereich, stößt man allerdings noch auf weitere Herausforderungen, die im folgenden Kapitel näher erläutert werden.

1.2.4 Wasserstabilität und Biokompatibilität von SURMOFs

Die SURMOFs sind wie in Kapitel 1.2 beschrieben, aus Kupfer, bzw. Zinkacetat - SBUs aufgebaut, die chemische Stabilität der Materialien ist, wie bereits im vorhergehenden Abschnitt diskutiert, durch die Bindungsstärken der Metall-Linker Koordination gegeben. Durch die vergleichsweise schwache Bindungsstärke der Kupfer-Sauerstoff Bindung (287 kJ/mol)⁷⁰, gehören die aus $\text{Cu}(\text{CO}_2)$ und $\text{Zn}(\text{CO}_2)$ SBUs aufgebauten MOFs eher zu den wasserlabilen MOF-Strukturen. Studien zum biologischen Einsatz von SURMOFs anhand von SURMOF-2, zeigen eine ausreichende Stabilität in reinem Wasser, allerdings kann in proteinhaltigen Lösungen, welche zu einer zusätzlichen Komplexierung der Kupferionen führen, eine recht schnelle Zersetzung des Gerüsts beobachtet werden.⁶⁶ Nichts desto trotz konnte in dieser Arbeit die Biokompatibilität des SURMOF-2 anhand von Fibroblasten gezeigt werden, die trotz der Zersetzung des Gerüsts keine Beeinträchtigungen in Wachstum und Zellteilung zeigten.

Bemühungen, die Wasserstabilität von SURMOFs zu verbessern, laufen zumeist auf zwei unterschiedliche Strategien hinaus. Eine davon ist der oben beschriebene Einsatz unterschiedlicher Metallionen zur Erhöhung der Bindungskräfte im Gerüst, um thermodynamisch stabile Strukturen zu erhalten.

Die Schwierigkeit bei der Herstellung von thermodynamisch stabilen SURMOF-Filmen liegt an der gewählten Synthesemethode. Da die Synthese der SURMOFs, wie in Kapitel 1.2 beschrieben, bei Raumtemperatur oder nur leicht erhöhte Temperatur in einem Schritt-für-Schritt Verfahren durchgeführt wird, sind bis jetzt noch nicht alle MOF Strukturen für die Herstellung von SURMOF-Filmen verfügbar. Im Gegensatz zur solvothermalen Synthese von MOFs, darf bei der SURMOF-Synthese die Bildung der SBU nicht thermisch kontrolliert sein, durch die geringe Reaktionstemperatur muss die Ligandenaustauschreaktion am Metall Zentrum ohne eine größere Aktivierungsenergie ablaufen. Diese Voraussetzungen sind bei dem Einsatz von Acetat-verbrückten SBUs gegeben. In Abb. 8 sind verschiedene Acetat verbrückte SBUs dargestellt, neben der wohlbekannten Paddle Wheel Struktur (a) konnten Serre *et al.* die Raumtemperatursynthesen verschiedener MOF-Systeme anhand eines Acetat-verbrückten, hexanuklearen Zirkoniumclusters⁷⁶ bzw. eines trinuklearen Eisenclusters⁷⁷ vorstellen.

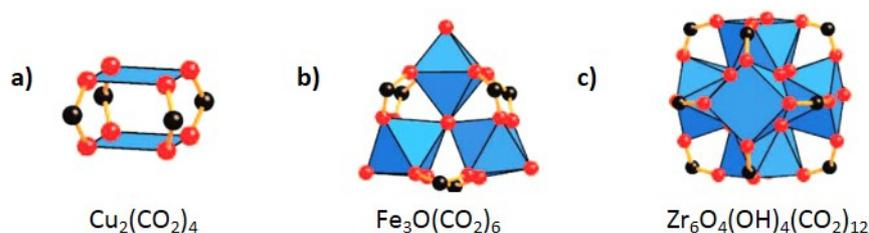


Abb. 8 Darstellung verschiedener Acetat-verbrückter SBUs zur Raumtemperatursynthese von MOFs. (a) Die binukleare Paddle-Wheel Struktur. (b) Ein trinuklearer, Acetat-verbrückter Eisencluster zur Raumtemperatursynthese von MIL-88.⁷⁷ (c) Ein hexanuklearer Acetat-verbrückter Zirkoniumcluster zur Raumtemperatursynthese von UiO-66 bzw. UiO-67.⁷⁶ (Modifiziert übernommen aus³)

Die zweite Strategie ist die Veränderung der Poreneigenschaften durch Modifizierung der Linkermoleküle, die ebenfalls zu kinetisch stabilen MOF-Strukturen führen können. Die Zersetzung des Gerüsts erfolgt oft durch den nukleophilen Angriff der Metallzentren durch Lösungsmittelmoleküle wie zum Beispiel Wasser. Das Eindringen des Wassers oder anderer hydrophiler Lösungsmittelmoleküle kann durch das Anbringen hydrophober oder sterisch anspruchsvoller Seitengruppen an den Linkermolekülen verhindert werden. So kann die Wasserstabilität eines $[\text{Zn}(\text{bdc})(\text{bipy})_{0.5}]$ MOFs durch das einfache Einbauen von Methyl-Seitengruppen bereits deutlich verbessert werden⁵³, dieses Konzept lässt sich mit längeren Alkyl-Seitengruppen oder halogenierten Linkern weiter verbessern.⁷⁸ Dieser Ansatz, bei dem funktionalisierte Linker zur MOF-Synthese eingesetzt werden, wird als „Vorfunktionalisierungs-Ansatz“ bezeichnet und ist für eine große Anzahl von funktionellen Gruppen, wie $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_3$ oder Halogenide sehr erfolgreich. Andere Seitengruppen hingegen sind für diesen Ansatz ungeeignet, da sie das MOF-Wachstum beeinträchtigen oder nicht stabil gegenüber den solvothermischen Reaktionsbedingungen sind. Um trotzdem Zugang zu diesen Funktionalitäten zu bekommen, konnten in Arbeiten, die vor allem von der Gruppe um Seth Cohen vorangetrieben wurden, einige Fortschritte durch die postsynthetische Modifizierung (PSM) von MOFs erzielt werden. Bei diesem Ansatz werden gut einbaubare Seitengruppen wie etwa Amine nach der MOF-Synthese unter geeigneten Bedingungen weiter funktionalisiert (siehe Abb. 9).³³ Auch hinsichtlich der Wasserstabilität konnten gute Ergebnisse *via* PSM erzielt werden, so führt etwa der postsynthetische Einbau von langkettigen Alkanen zu superhydrophoben, wasserstabilen MOF-Strukturen.⁷⁹ Dieser Ansatz kann sowohl neue Anwendungen im biologischen Bereich,⁸⁰ als auch zahlreiche Anwendungen in Gasspeicherung, Katalyse und Sensorik ermöglichen, wie Cohen und Tanabe in einem Review von 2011 zeigen konnten.⁸¹

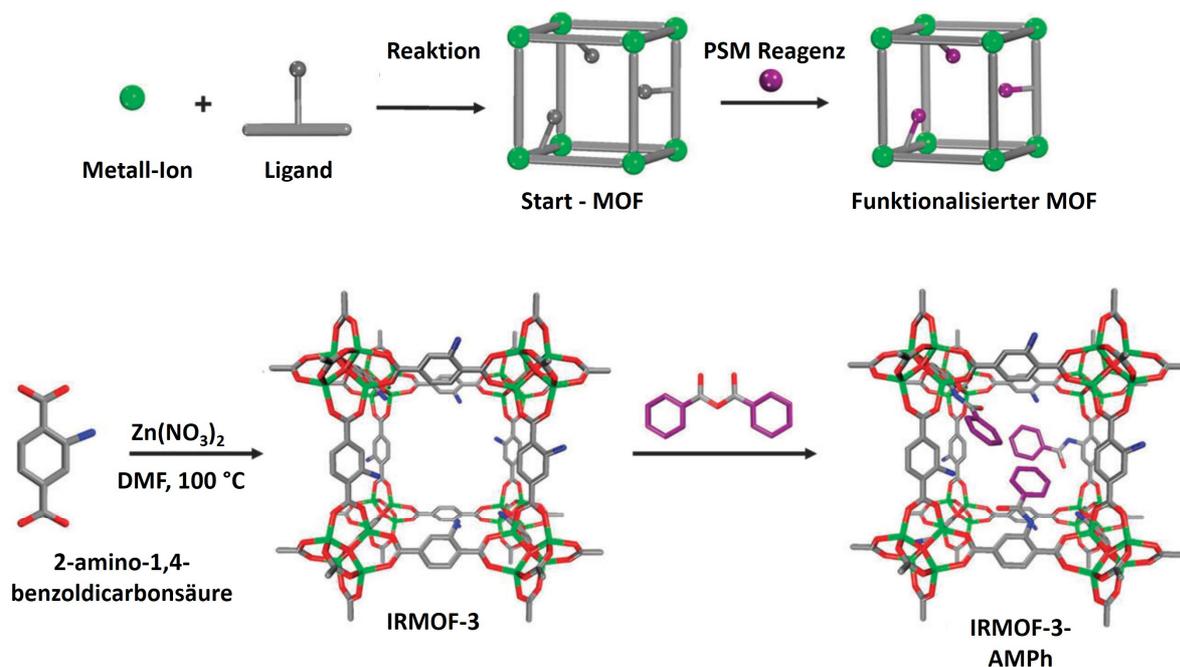


Abb. 9 (Oben) Generelles Schema einer postsynthetischen Modifizierung (PSM) eines MOFs. (Unten) Spezifisches Beispiel einer PSM an einem Amin-funktionalisierten MOF mit Benzolanhydrid. (Modifiziert übernommen aus⁸¹).

Die Wasserstabilität von solch kinetisch stabilisierten MOF-Strukturen, bei denen die Stabilität auf der Abschirmung der wassersensitiven Metallzentren beruht, ist allerdings nicht so nachhaltig stabil wie die von thermodynamisch stabilen MOFs. Nach längerem Kontakt des MOFs mit Wasser kann das Eindringen der Wassermoleküle zu einer Zersetzung des Metall-organischen Gerüsts führen.⁸²

Für eine biologische Anwendung der SURMOFs, wie sie für diese Arbeit angestrebt wird, ist eine dauerhafte und permanente Wasserstabilität allerdings eine Grundvoraussetzung. Diese Herausforderung, die herausragenden Eigenschaften der SURMOF-Filme (permanente Mikroporosität, ideale molekulare Strukturierung, Einstellung der Porengröße und -eigenschaften) für die Nutzung im biologischen Bereich zugänglich zu machen, konnten 2013 von Manuel Tsotsalas *et al.* gemeistert werden.⁸³ Nach Vorarbeiten der Gruppe um Prof. Sada, die das Prinzip der PSM insofern erweiterten, dass sie nicht nur die individuellen Linkermoleküle funktionalisierten, sondern diese mit einem multifunktionellen Sekundärlinker untereinander vernetzen, konnte ein ideales Polymernetzwerk hergestellt werden.⁸⁴

Die Herstellung und das Prinzip dieser idealen Polymernetzwerke aus SURMOF Substraten – sogenanntes SURGEL soll im folgenden Abschnitt genauer diskutiert werden.

1.3 Konversion von SURMOFs zu SURGELS

Die oben erwähnte Methode, den Ansatz der postsynthetischen Modifizierung von MOFs für die Herstellung permanent stabiler und poröser Verbindungen zu nutzen, stellte die Gruppe von Kazuki Sada 2013 vor. Dabei wurden Einkristalle verschiedener auf Zn(II), Cu(II) oder Zr(IV) basierter MOF-Strukturen hergestellt und anschließend mit einem multifunktionalen Sekundärlinker quervernetzt. Diese Quervernetzung der Linkermoleküle führt zu einer Stabilisierung des Gerüsts unabhängig von den Metallionen und ermöglicht das anschließende Herauslösen der Metallionen ohne die Zersetzung der organischen Struktur. Somit erhält man ein Polymergel, das durch den Einsatz des MOF-Templates die molekulare Strukturierung und Porosität des Ausgangs-MOFs beibehält.

Manuel Tsotsalas konnte die Strategie der Konversion eines kristallinen, porösen MOFs zu einem polymeren, porösen GEL auf das SURMOF System übertragen.

In einer Arbeit von 2013 stellte er die erfolgreiche Synthese eines Azid-funktionalisierten SURMOFs vor, der anschließend in einer 1,3-dipolaren Cycloaddition mit einem multifunktionalen Alkin quervernetzt werden konnte. In Abb. 10 werden die einzelnen Schritte der Synthese dargestellt. Durch die zusätzlichen Verstrebungen des Sekundärlinkers ist das Gerüst unabhängig von den Metallionen stabil. Somit können diese im letzten Schritt mit dem Komplexbildner Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) aus dem Gerüst herausgelöst werden.

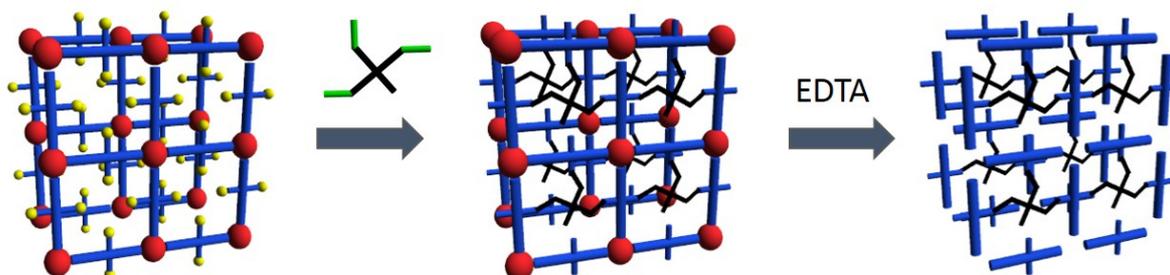


Abb. 10 Die schematische Darstellung der Konversion eines Azid-funktionalisierten SURMOFs zu einem idealen Polymergel (SURGEL). Im ersten Schritt werden die azid-funktionalisierten Linkermoleküle mit einem multifunktionalen Sekundärlinker vernetzt, im zweiten Schritt werden die Metallionen mit EDTA aus dem Netzwerk herausgelöst. (Modifiziert übernommen aus ⁸³).

Die Gel Konversion eines SURMOF-Films führt zu einem quervernetzten, porösen Polymer, das durch den Aufbau aus dem MOF die Homogenität und molekulare Strukturierung des Films beibehält. Die Eignung dieses neuen Materials in der biologischen Anwendung konnte in derselben Arbeit anhand des Bakterienstammes *P.putida pJN::GFP* gezeigt werden. Dabei konnte neben den atoxischen Eigenschaften des SURGELS auch die weiterhin bestehende Porosität des Gels gezeigt werden.

Als Modelorganismus wird der genmodifizierte Bakterienstamm *P. putida pJN::GFP* verwendet, der nach Aufnahme von Arabinose eine selektive GFP Expression zeigt. Um zu zeigen, dass die Poren des SURGELs mit einem Gastmolekül beladen werden können, wurde wie in Abb. 11 gezeigt eine Hälfte des SURGELs mit Arabinose beladen. Obwohl die Bakterien auf beiden Hälften erfolgreich ansiedeln, zeigen nur die auf der mit Arabinose beladenen Hälfte eine GFP Expression, die im Fluoreszenzmikroskop nachvollzogen werden kann.

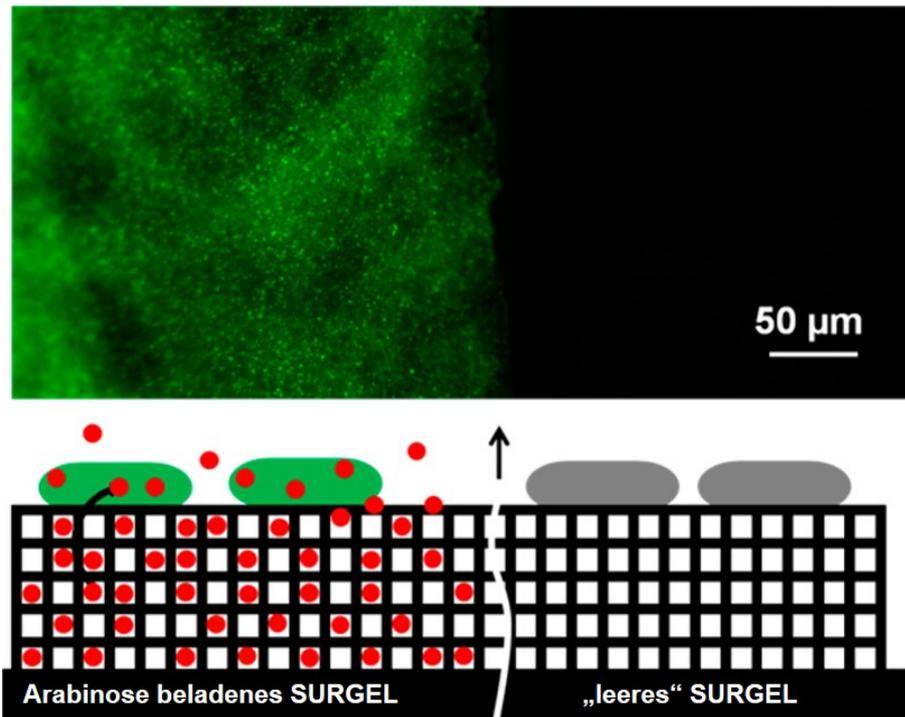


Abb. 11 Der genmodifizierte Bakterienstamm *P. putida pJN::GFP* zeigt nach Aufnahme von Arabinose eine selektive GFP Expression. Im oberen Bereich wird die GFP Verteilung in einer Fluoreszenzmikroskopaufnahme gezeigt, im unteren Bereich wird schematisch die Beladung des SURGELs mit Arabinose dargestellt, nur die auf dem beladenen Bereich siedelnden Bakterien zeigen eine GFP-Expression (Modifiziert übernommen aus⁸³).

Somit konnte die neue Materialklasse des SURGELs erfolgreich als Biomaterial eingeführt werden. Durch die Verwendung eines SURMOF-Films als Templat können alle Vorteile der Schritt-für-Schritt Synthese ausgeschöpft werden. Der erhaltene homogene Film kann nicht nur auf zweidimensionalen Oberflächen verwendet werden, sondern ist durch das epitaktische Tauchverfahren auch für dreidimensionale Strukturen zugänglich. Dies macht die SURGELe als Materialklasse nicht nur als „drug carrier“ Systeme interessant, sondern auch für viele weitere Anwendungen von Biomaterialien. Zu nennen wäre dabei der Einsatz als Beschichtung von Implantat-Oberflächen als Vermittlermembran zwischen den notwendigerweise mechanisch sehr robusten Implantaten und den körpereigenen Zellen und Geweben. Die Weiterentwicklung des SURGELs auf verschiedenen Substraten,

die Wechselwirkungen mit unterschiedlichen Zelltypen und die Einlagerung und Freisetzung von Wirkstoffmolekülen in die Poren des Gels ist das Ziel dieser Arbeit.

Um die Anforderungen richtig zu verstehen, die an ein Material in der biologischen Anwendung gestellt werden, wird im folgenden Kapitel auf Biomaterialien im Allgemeinen, die Wechselwirkungen von Zellen untereinander und mit dem umgebenden Medium eingegangen.

1.4 Biomaterialien

Die Anforderungen an Biomaterialien sind vor allem von den Bedürfnissen der Zellen vorgegeben, die mit dem Material interagieren. Neben ersten Tests in der Arbeit von Manuel Tsotsalas, die sich auf prokariotische Zelllinien bezieht, müssen für den Einsatz der SURGELe als Beschichtung von Implantaten oder anderen Biomaterialien im menschlichen Körper, allerdings auch die Eignung als Zellwachstumssubstrate für eukariotische Zellen gezeigt werden.

Für Biomaterialien im Einsatz als Implantate sind vor allem die Wechselwirkungen mit knochenbildenden Zellen (Osteoblasten) interessant. Die Ansiedelung von Osteoblasten und die Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen zu den knochenbildenden Zellen auf der Implantatoberfläche können zu einer verbesserten Verträglichkeit der Implantate ohne Abstoßungserscheinungen verhelfen. Die Differenzierung der Stammzellen zu den unterschiedlichen Zelltypen ist ein sehr komplexes Thema, das im folgenden Abschnitt kurz angerissen werden soll.

1.4.1 Für Biomaterialien relevante Zelltypen

Bei der Entwicklung des menschlichen Embryos werden alle später vorhandenen Zelltypen aus den embryonalen Stammzellen gebildet. Am Anfang der Entwicklung entstehen drei verschiedene Zellschichten im Embryoblasten. Diese werden als endodermale, ektodermale und mesodermale Schicht, oder als Keimblätter bezeichnet und bilden bereits die Grundlagen für verschiedene Gewebetypen.⁸⁵ In der weiteren Entwicklung differenzieren diese Zellen je nach Umgebungsreizen weiter und bilden im Laufe der Entwicklung des Embryos sehr spezialisierte Zellen aus. Nach der abgeschlossenen Entwicklung finden sich im Körper adulte Stammzellen, die nicht mehr wie die embryonalen Stammzellen zu allen körpereigenen Zellen differenzieren können (Pluripotenz), sondern ein eingeschränkteres Differenzierungspotential haben und auf einen bestimmte Gewebstypen beschränkt sind (Multipotenz). So können sich beispielsweise die mesenchymalen Stammzellen zu Knochen, Knorpeln, Muskeln und Bindegewebe entwickeln und die hämatopoetischen Stammzellen zu den verschiedenen blutbildenden Zelltypen. Welche Differenzierung der Stammzellen eintritt, wird von der biologischen Mikroumgebung der Zellen bestimmt. So spielen Zell/Zell-, Zell/Matrixkontakte und Wachstumsfaktoren, sogenannten Zytokine, eine Rolle. Diese Differenzierung durch gezielte chemisch funktionalisierte und strukturierte Substrate steuern zu können, ist eines der großen Forschungsbereiche bei der Entwicklung von Biomaterialien. Vor allem die gezielte Ansiedelung und Differenzierung der

mesenchymalen und hämatopoetischen Stammzellen durch geeignete Umgebungsreize ist interessant für die biomedizinische Anwendung.

Auch die Ansiedelung spezialisierter Zellen wie etwa der knochenbildenden Osteoblasten ist für die Anwendung der Materialien interessant.

1.4.2 Biomaterialien und deren Einsatz in „Tissue Engineering“ und der Wirkstofffreisetzung

Die komplexe Interaktion der Zellen mit den Biomaterialien findet auf mehreren Längenskalen statt. Angefangen bei den makroskopischen Eigenschaften des Materials ist dessen mechanische Stabilität und Steifigkeit notwendig, um die mechanischen Kräfte der migrierenden Zellen aufnehmen zu können, ohne sich dabei zu verformen oder zu zersetzen.⁸⁶ Ebenso hat die topologische und chemische Strukturierung der Oberfläche einen großen Einfluss auf das Wachstum und die Migration der kultivierten Zellen.⁸⁷ Schließlich hat der molekulare Aufbau des Materials einen großen Effekt, Porosität ist notwendig, um beispielsweise Wirkstoffe oder Wachstumsfaktoren freisetzen zu können.⁸⁸ Abb. 12 zeigt unterschiedliche Anforderungen an Biomaterialien bei der Wechselwirkung mit endogenen Stammzellen. Sowohl physikalische als auch biochemische Signale können die Migration, Replikation und Differenzierung der Stammzellen auf dem Material beeinflussen.⁸⁹

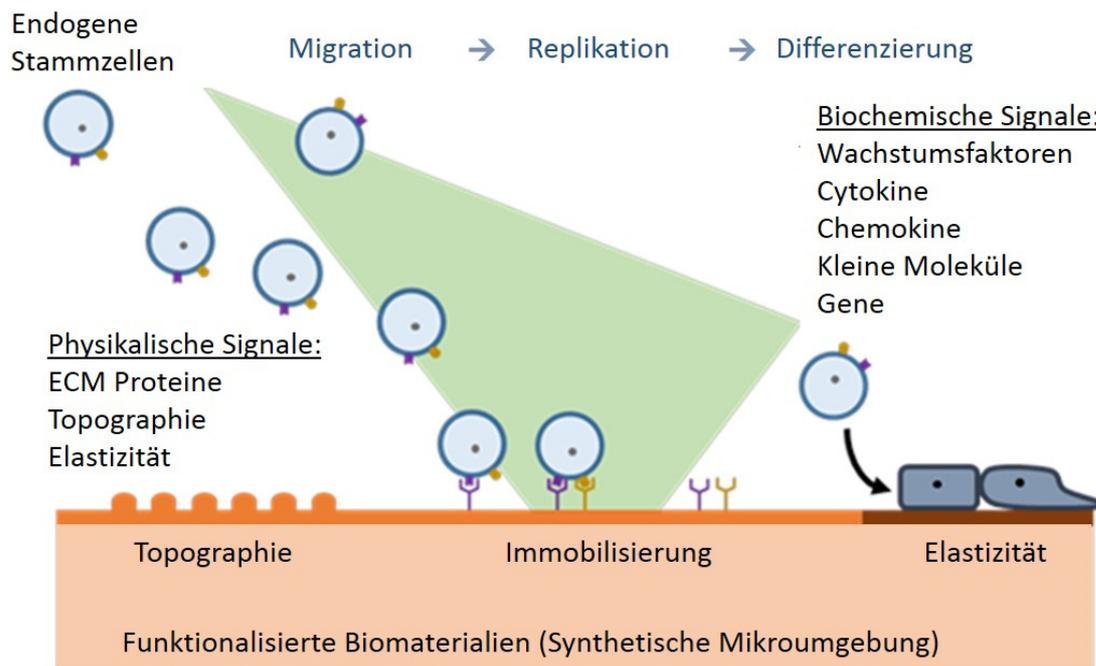


Abb. 12 Wechselwirkung von Biomaterialien mit endogenen Stammzellen. Sowohl durch physikalische als auch durch biochemische Signalisierung des synthetischen Materials wird die Migration, Replikation und Differenzierung der Zellen beeinflusst. (Modifiziert übernommen aus ⁸⁹).

Die bisher für Gewebeaufbau (englisch, Tissue Engineering), Wundheilung und Implantate genutzten Biomaterialien basieren meist auf Standardpolymeren. Deren Strukturierung ist meist nur auf der makroskopischen Ebene durchführbar, wobei die Strukturierung im Nano- und Mikrometer Bereich außer Acht gelassen wird.⁹⁰ Dies führt oft zu einem nicht optimalen Ergebnis in der Anwendung dieser Materialien. Wie in dieser und vorhergehenden Arbeiten gezeigt werden konnte, kann der Ansatz des SURGELs genau diesen Ansprüchen gerecht werden. Durch den Aufbau von porösen und hoch strukturierten SURMOFs und der anschließenden Konvertierung in sogenannte „ideale Polymernetzwerke“ wird die Strukturierung sowohl im makroskopischen, als auch im Nano- und Mikrometer Bereich wohldefiniert. Im Zuge dieser Arbeit wurde die Strukturierung des SURGELs auf all diesen Ebenen untersucht und optimiert. Angefangen bei der molekularen Strukturierung der SURMOFs wurde der hierarchische Aufbau orthogonal zur Oberfläche untersucht, um verschiedene funktionelle Ebenen in die SURMOFs einzubauen. Auch die laterale chemische Strukturierung der Oberfläche mithilfe lichtsensitiver Funktionalisierungsmethoden konnte erfolgreich gezeigt werden (siehe Kapitel 4.2). Somit können die SURGELs auf allen oben aufgelisteten, für die Zell-Material-Wechselwirkungen relevanten Längenskalen optimal aufgebaut werden.

Die verschiedenen Methoden für die Materialstrukturierungen werden in der Ergebnisdiskussion genauer erläutert. Um die Interaktionen der Zellen mit den

Biomaterialien besser zu verstehen, wird auf diese Wechselwirkungen in den folgenden Abschnitten speziell eingegangen.

1.4.3 Zellkommunikation im Organismus

Im Organismus läuft die Zellkommunikation auf sehr vielen verschiedenen Wegen ab. Dabei kann die Informationsübertragung über einen direkten Zell-Zell-Kontakt, über die Verabreichung von Wachstumsfaktoren über das Blut, das umgebende Medium oder der Bindung der Wachstumsfaktoren in der extrazellulären Matrix ablaufen. Zusätzlich hat die Bindung der Zellen an die extrazelluläre Matrix bzw. zu dem umgebenden Stützgewebe (Stromazellen) einen großen Einfluss auf die Migration und Proliferation der Zellen.

Die oben erwähnte extrazelluläre Matrix (ECM aus dem englischen extracellular matrix) ist in allen Organismen zu finden und ist für Gewebeeigenschaften, wie Strukturhaltung (Sehnen und Kapseln), Elastizität (Knorpel und Gefäßwände), Polsterung (Fettgewebe) und vieles andere zuständig.⁹¹ Die Bildung der extrazellulären Matrix wird von den Stromazellen übernommen, sie besteht hauptsächlich aus Kollagen, Elastin und Glykoproteinen (wie z.B. Fibronectin oder Laminin), die je nach Gewebeart unterschiedlich zusammengesetzt werden. Neben den oben beschriebenen strukturgebenden Eigenschaften, ist die ECM für die Speicherung und Verabreichung der von den Stromazellen gebildeten Wachstumsfaktoren verantwortlich.

Die Interaktion der Zellen mit der Extrazellulären Matrix findet über sogenannte Integrine statt. Integrine sind Transmembranproteine, die in der Zellwand eingelagert sind und als Zelloberflächenrezeptoren an die ECM-Proteinen koppeln können.⁹²

Eine recht oft untersuchte Erkennungssequenz der Integrine, ist die in einigen Glykoproteinen, wie zum Beispiel Fibronectin, enthaltene RGD-Sequenz (Arginin-Glycin-Asparaginsäure). RGD wirkt somit als Adhäsionsmolekül, da die Integrine das intrazelluläre Zytoskelett mit der extrazellulären Matrix koppeln. In den letzten Jahren konnten einige Gruppen zeigen, dass Fibronectin oder auch die isolierte RGD Sequenz strukturiert aufgebracht auf Biomaterialien als Wegweiser für migrierende Zellen wirken kann.⁹³

1.4.4 SURGEL Biomaterialien

Mit dieser kurzen Einführung können die verschiedenen, an neuartige Biomaterialien gestellten Anforderungen nachvollzogen werden. Für den Einsatz in der regenerativen Medizin sollten Biomaterialien in Grundzügen die Funktionen der extrazellulären Matrix übernehmen. Dazu gehört vor allem die Bereitstellung von relevanten Wachstumsfaktoren in Form von physikalischen und chemischen Reizen. Die

Kapitel dieser Arbeit befassen sich dementsprechend mit verschiedenen Ansätzen diese biomimetischen Konzepte für das SURGEL zu optimieren. Für die Einlagerung und Speicherung der Wachstumsfaktoren ist eine poröse und funktionale Struktur vonnöten, die durch das Verwenden von SURMOFs als Strukturtemplate erreicht wird (siehe Kapitel 4.3). Durch einen gezielten hierarchischen Aufbau des Materials kann die Abgabe dieser eingelagerten Stoffe unter verschiedenen Bedingungen kontrolliert werden (siehe Kapitel 4.1). Durch die strukturierte Oberflächenfunktionalisierung mit der aus der extrazellulären Matrix bekannten RGD-Sequenz kann die Zelladhäsion und Zellmigration gesteuert werden (siehe Kapitel 4.2). Die in dieser Arbeit vorgestellten Strukturierungsmöglichkeiten zeigen zum einen die hohe chemische Variabilität der SURGELe und zum anderen das große Potential dieser neuartigen Polymerklasse für den Einsatz als Biomaterialien.

2 GRUNDLAGEN DER VERWENDETEN METHODEN

2.1 Röntgen Diffraktometrie

Die Röntgenstrahlung wurde 1895 von Wilhelm Conrad Röntgen entdeckt. Sie liegt mit Wellenlängen zwischen 10 nm – 2 pm zwischen der fernen UV Strahlung und der γ -Strahlung im elektromagnetischen Spektrum. Röntgenstrahlen werden erzeugt, wenn hochbeschleunigte Elektronen auf Materie treffen und durch diese abgebremst werden. Dabei wird ein Teil der Energie der Elektronen als Röntgenstrahlung abgegeben. Die maximal abgegebene Energie hängt von der Gesamtenergie der Elektronen und somit von der angelegten Beschleunigungsspannung ab.⁹⁴

$$\Delta E_{max} = eV = h\nu_{max} = \frac{hc}{\lambda_{min}} \quad (2.1)$$

e – Ladung des Elektrons: $1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$, V – angelegte Hochspannung in Volt, h – Planck'sche Konstante: $6,626 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$, c – Lichtgeschwindigkeit: $2,998 \cdot 10^8 \text{ ms}^{-1}$

Zur Erzeugung von Röntgenstrahlen werden häufig Hochvakuumröhren mit Glühkathoden verwendet. Als Elektronenquelle dient eine Wolframdrahtwendel, die auf Temperaturen von bis zu 2300 °C erhitzt wird. Die Elektronen werden beschleunigt und treffen auf die Metalloberfläche der Anode, dabei entstehen die kontinuierliche Bremsstrahlung und eine vom Anodenmaterial abhängige charakteristische Röntgenstrahlung.

Röntgenstrahlung hat eine relativ schwache Wechselwirkung mit fester Materie und kann so tief in die Materie eindringen. Dabei wird an jeder Netzebene ein Teil der Strahlung reflektiert, die Überlagerung dieser reflektierten Strahlung führt je nach positiver oder negativer Interferenz an ganz bestimmten, durch die Geometrie des Materials festgelegten Richtungen, zu einer Verstärkung (siehe Abb. 13).

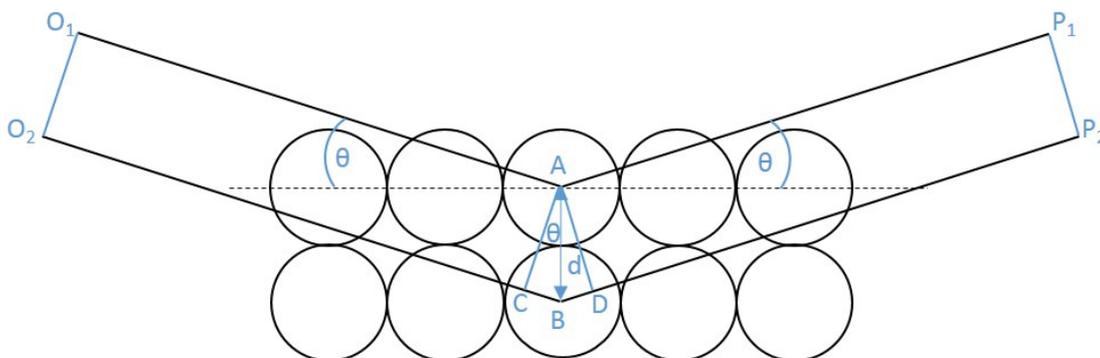


Abb. 13 Schematische Darstellung der Brechung von Röntgenstrahlen an aufeinanderliegenden Netzebenen.

Wenn zwei phasengleiche, parallele Röntgenstrahlen von O_1 und O_2 ausgehend in einem Winkel θ auf die Oberfläche treffen (siehe Abb. 13), werden sie an den durch Kreise dargestellten Gitterpunkten A und B reflektiert. Da die Strecke \overline{AC} parallel zu $\overline{O_1O_2}$ und \overline{AD} parallel zu $\overline{P_1P_2}$ liegt, lässt sich durch einfache geometrische Überlegungen errechnen, dass der Röntgenstrahl mit dem Weg $\overline{O_2BP_2}$ um die Differenz $\Delta = \overline{CBD}$ länger ist, als die Strecke $\overline{O_1AP_1}$. Die beiden Strecken \overline{CB} und \overline{BD} sind gleich lang, daher kann die Differenz Δ mit trigonometrischen Funktionen beschrieben werden als:

$$\Delta = 2 \overline{CB} = 2d \sin \theta \quad (2.2)$$

William Lawrence Bragg formulierte ausgehend davon die BRAGGSCHES REFLEXIONSBEDINGUNG, die besagt, dass die reflektierten Wellen nur dann in Phase schwingen können, wenn die Wegdifferenz Δ ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge der Röntgenstrahlen beträgt.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (2.3)$$

2.1.1 Pulverdiffraktometrie

Bei der Pulverdiffraktometrie macht man sich das oben erläuterte Prinzip zur Nutze, um Informationen zur Kristallstruktur einer Probe zu erhalten.⁹⁵ Für die Aufnahme von Pulverdiffraktogrammen wird die von der Röntgenröhre ausgehende Strahlung durch einen Filter und ein Blendensystem geleitet, so dass ein monochromatisches, paralleles Strahlenbündel auf die kristalline Pulverprobe trifft. Dabei wird die Röntgenstrahlung an allen Netzebenen gebeugt. Für eine sinnvolle Analyse der Röntgenbeugung wird meist nicht mit einer n-ten Ordnung der Wellenlänge gearbeitet, anstatt dessen wird der Faktor n in den Index der Netzebenen (nh nk nl) miteinbezogen.

$$\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (2.4)$$

Wird der Röntgenstrahl nach diesen Bedingungen an einer Pulverprobe gebeugt, entstehen Beugungskegel mit einem halben Öffnungswinkel von 2θ .

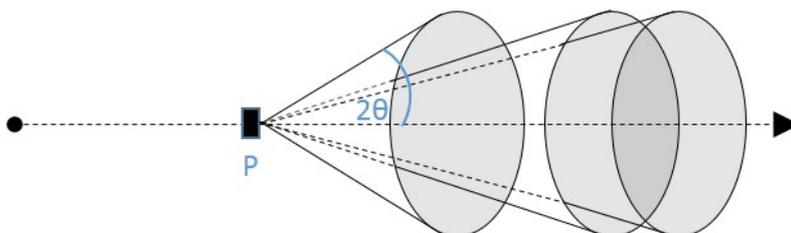


Abb. 14 Beugung von monochromatischen Röntgenstrahlen an der kristallinen Pulverprobe P führt zu Beugungskegeln mit einem halben Öffnungswinkel von 2θ .

Aus den Beugungswinkeln lassen sich anschließend Informationen über den Abstand der Netzebenen berechnen und daraus kann man auf die Größe und Geometrie der Elementarzelle der Materialien schließen. Für die Detektion der entstehenden Interferenzkegel, stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Meistens wird nur ein kleiner Abschnitt des Kegels detektiert. So auch in dem von uns verwendeten Bruker D8 Advance Diffraktometer in θ - 2θ Geometrie (siehe Abb. 15), wobei ein Goniometerverfahren angewandt wird. Dabei befindet sich die Probe in der Mitte eines Messkreises, die Röntgenquelle und der Detektor befindet sich entlang eines gedachten Fokussierungskreises. Dabei bewegt sich der Detektor mit doppelter Geschwindigkeit als die Röntgenquelle entlang des Kreises, um die mit einem Winkel von 2θ gebeugten Strahlen zu detektieren.

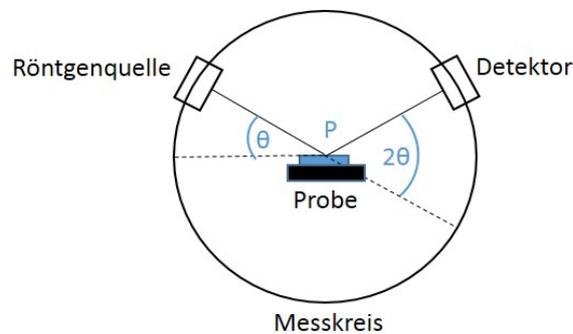


Abb. 15 Die Probe (P) befindet sich in der Mitte des Messkreises. Die Röntgenquelle und der Detektor bewegen sich auf dessen Außenkante, dabei bewegt sich der Detektor mit doppelter Geschwindigkeit wie die Röntgenquelle.

Die Detektion der Röntgenstrahlung erfolgt über einen PSD Lynxeye[®] Detektor, einen energiedispersen Halbleiterdetektor, wobei aus der detektierten Strahlung elektrische Impulse resultieren, die rechnerisch in das Diffraktogramm umgewandelt werden.

2.1.2 Out-of-plane und in-plane Röntgendiffraktometrie

Die oben beschriebenen Interferenzkegel entstehen nur bei einer sehr feinen pulverförmigen Verteilung der kristallinen Probe, bei der genügend kleine Teilchen vorhanden sind um eine gleichmäßige Verteilung der Netzebenen im Raum zu gewährleisten. Sind zu wenige Teilchen vorhanden, werden die Kegel zu einzelnen Punkten aufgelöst. Noch weniger Informationen erhält man bei den von uns verwendeten orientierten kristallinen SURMOF-Filmen. Da die Gitterebenen dieser Filme parallel zur Oberfläche ausgerichtet sind, ist keine statistische Verteilung der Netzebenen im Raum mehr vorhanden. Um trotz dieser Eigenschaften sinnvolle Informationen durch die

Röntgenbeugung zu bekommen, werden out-of-plane und in-plane Messungen durchgeführt. Dabei erhält man Informationen über die Orientierung der Netzebenen parallel (out-of-plane) oder senkrecht (in-plane) zur Oberfläche (siehe Abb. 16).

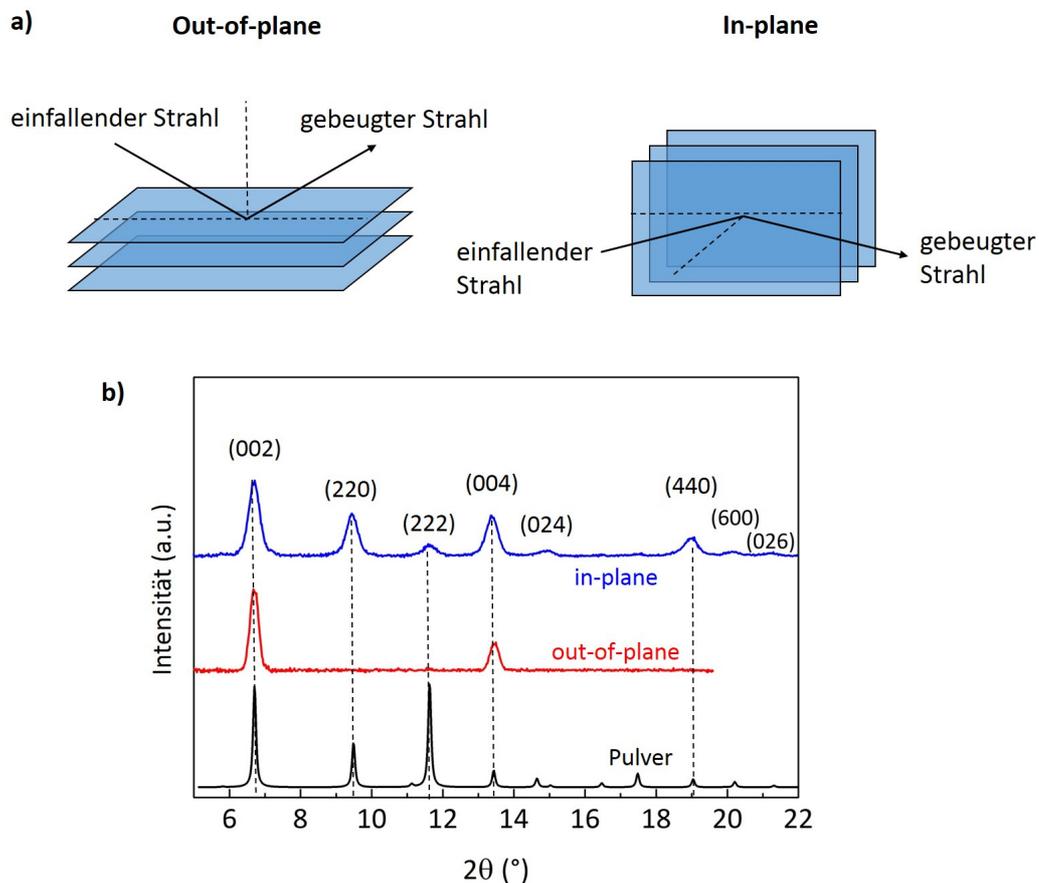


Abb. 16 (a) Geometrische Darstellung der Out-of-plane und In-plane Röntgendiffraktometrie. (b) Beispiel der unterschiedlichen Diffraktogramme von HKUST-1 Pulver (schwarz) und HKUST-1 SURMOF in out-of-plane (rot) und in-plane (blau) Aufbau.

In Abb. 16 (b) sind am Beispiel von HKUST-1 die unterschiedlichen Diffraktogramme eines Pulver MOFs (schwarz) und des SURMOFs in out-of-plane (rot) und in-plane (blau) Geometrie gezeigt. Es ist zu erkennen, dass das out-of-plane Diffraktogramm nur die Peaks der 002 und 004 Ebenen zeigen, da der SURMOF in 001 Richtung orientiert ist und nur die parallel zur Oberfläche stehenden Ebenen sichtbar sind. In dem Diffraktogramm der in-plane Messung hingegen sind alle Peaks zu sehen, da die in 001 orientierten Domänen in lateraler Ausrichtung entlang der Oberfläche unterschiedlich ausgerichtet sind.

2.2 Infrarot Spektroskopie

In der Infrarot Spektroskopie nutzt man den Umstand, dass Molekülschwingungen und –rotationen von elektromagnetischen Wellen im infraroten Bereich angeregt werden können.⁹⁶⁻⁹⁸ Der infrarote Bereich schließt im elektromagnetischen Spektrum mit Wellenlängen von etwa 780 nm – 1 mm an den sichtbaren Bereich an. Für die IR-Spektroskopie wird meistens in einem Wellenlängenbereich von 2.5 – 15 µm gearbeitet, da die meisten relevanten organischen Gruppen in diesem Bereich angeregt werden können. Üblicherweise wird dabei die Wellenzahl ν [cm^{-1}] angegeben. Sie entspricht der reziproken Wellenlänge und ist somit direkt proportional zur Energie der elektromagnetischen Strahlung. Ein IR-Spektrum umfasst meistens den Bereich von - 4000 bis - 400 cm^{-1} , in dem die Schwingungsfrequenzen der gängigsten organischen Gruppen abgedeckt werden.

Für die qualitative Auswertung eines IR-Spektrums kann man sich ein zweiatomiges Molekül analog zu dem mechanischen Schwingungsmodell als einen harmonischen Oszillator vorstellen. Dabei sind zwei Massen m_1 und m_2 durch eine Feder mit der Kraftkonstante k verbunden.

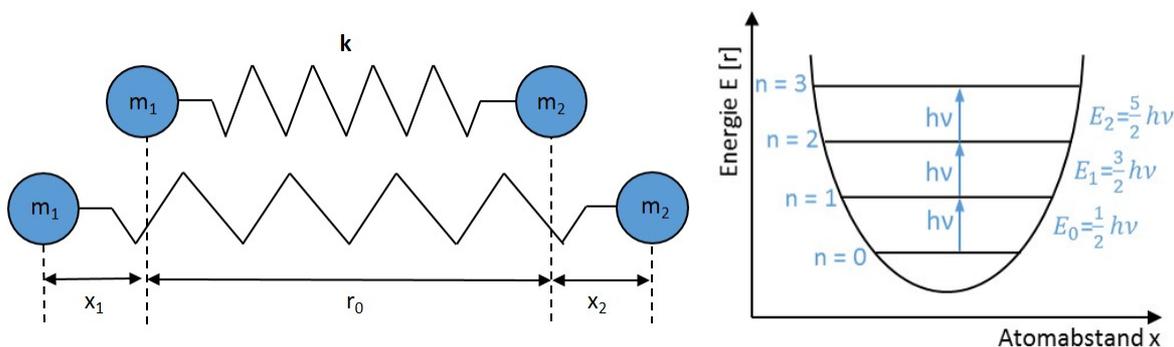


Abb. 17 Mechanisches Modell eines schwingenden, zweiatomigen Moleküls (links), Potentialkurve eines harmonischen Oszillators (rechts).

Die Kraftkonstante k ist ein Maß für die Bindungsstärke zwischen den Molekülen. Gerät das Molekül in Schwingung, vergrößert sich zuerst der Abstand der beiden Massenpunkte von dem ursprünglichen Wert r_0 um den Betrag $\Delta r = x_1 + x_2$. Die Kraftkonstante k ist dieser Auslenkung entgegengerichtet und führt nach Ausbildung des Gleichgewichtszustandes wieder zum Zusammenziehen der gespannten Feder. Die potentielle Energie und die Frequenz der Schwingung werden mit dem Modell des harmonischen Oszillators beschrieben.⁹⁹

$$E(r) = \frac{1}{2}k \cdot x^2 = 2\pi^2\mu\nu_{OSC}^2 \cdot x^2; \quad \nu_{OSC} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}; \quad \mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2} \quad (2.5)$$

Die Schwingungsfrequenz des Oszillators hängt also von der reduzierten Masse μ , und der Kraftkonstante k ab. Das heißt, je stärker die Bindung zwischen den Atomen und je kleiner die Massen m_1 und m_2 , umso höher ist die Frequenz ν . Mit diesen Zusammenhängen lassen sich die Spektren qualitativ auswerten. Für die Ausbildung von Mehrfachbindungen zwischen zwei Kohlenstoffatomen lässt sich dadurch beispielsweise folgende Aussage treffen: Die Bindungsstärke nimmt von der Einfachbindung zur Dreifachbindung hin zu und damit auch die Schwingungsfrequenz - $\tilde{\nu}(C \equiv C) = 2200 \text{ cm}^{-1}$, $\tilde{\nu}(C = C) = 1640 \text{ cm}^{-1}$ und $\tilde{\nu}(C - C) = 1000 \text{ cm}^{-1}$.

Der harmonische Oszillator beschreibt das tatsächliche Verhalten von Molekülen, vor allem bei größeren Auslenkungen nur sehr ungenau. Eine genauere Beschreibung liefert der anharmonische Oszillator. Analog zum harmonischen Oszillator können die Schwingungen nur diskrete Energiezustände erreichen, diese sind jedoch nicht mehr äquidistant, sondern sie nehmen mit höheren Schwingungszuständen n ab.

Wenn ein Molekül mit der IR-Strahlung wechselwirkt, absorbiert es die Energie $h\nu$ und geht vom Grundzustand in einen angeregten Zustand über. Ob diese Wechselwirkung stattfinden kann, hängt von dem Dipolmoment des Moleküls ab. Da eine Absorption nur dann stattfinden kann, wenn der elektrische Vektor des Lichtes mit dem Dipol, also mit einer beweglichen, elektrischen Ladung wechselwirkt. Dadurch lässt sich die Auswahlregel der IR-Spektroskopie formulieren, die besagt, dass nur Moleküle mit einem sich während der Schwingung veränderndem Dipolmoment IR-aktiv sind.

Der prinzipielle Aufbau eines modernen FTIR-Spektrometers besteht aus der Strahlenquelle, einem Interferometer, einer Messzelle und dem Detektor. Im Interferometer wird die einfallende Strahlung in einem Strahlenteiler aufgetrennt, wobei einer der beiden Teilstrahlen auf einen um die Strecke z beweglichen Spiegel geleitet wird, während der andere eine stets gleich lange Wegstrecke zurücklegt (siehe Abb. 18). Nach dem Durchlaufen des Interferometers werden die beiden nun phasenverschobenen Teilstrahlen wieder zusammengeführt. Wird eine monochromatische Strahlung mit der Wellenlänge λ_1 verwendet, wird es bei einer Phasenverschiebung um $\lambda_1/2$, also bei einer Auslenkung des Spiegels um $z = \lambda_1/4$, zu einer Auslöschung durch destruktive Interferenz kommen. Beträgt die Phasenverschiebung ein ganzzahliges Vielfaches von λ_1 , also bei $z = \lambda_1/2$ wird es zu einer maximalen Intensität durch konstruktive Interferenz kommen. Die von z abhängige Intensität, die vom Detektor erfasst wird, wird als Interferogramm bezeichnet. Da die Strahlenquelle kein monochromatisches Licht, sondern ein kontinuierliches Spektrum emittiert erhält man im Interferogramm die Überlagerung der Interferogramme jeder einzelnen Wellenzahl. Durch anschließende Fourier Transformation wird das zeitabhängige Interferogramm in das frequenzabhängige Spektrum umgerechnet.⁹⁸

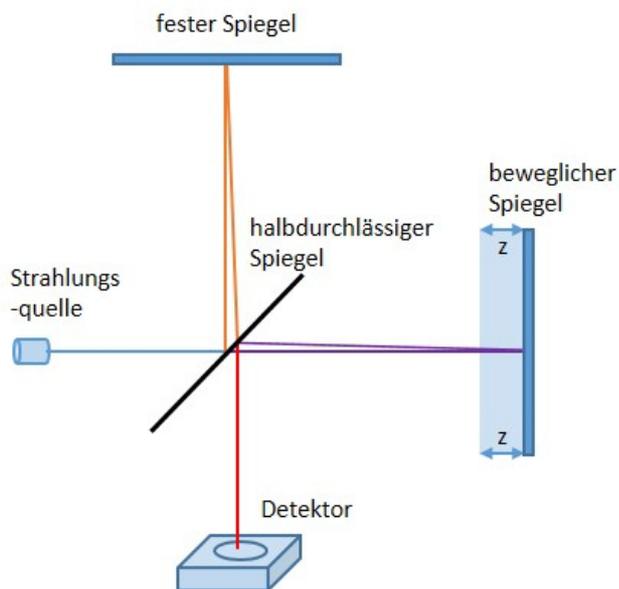


Abb. 18 Schematische Darstellung des Strahlengangs im Interferometer. Die von der Quelle ausgehende Strahlung wird an einem halbdurchlässigen Spiegel in zwei Teilstrahlen aufgetrennt. Ein Teilstrahl fällt auf einen festen Spiegel, der andere auf einen um die Strecke z beweglichen Spiegel. Nach der Zusammenführung der Teilstrahlen, weisen diese einen von z abhängigen Phasenunterschied auf.⁹⁹

In der Probenkammer (Messzelle) wird der aus dem Interferometer kommende Infrarotstrahl auf die Probe fokussiert, dabei kann die Probe mit verschiedenen Sampling-Techniken untersucht werden. Bei Transmissionsmessungen wird die Probe durchstrahlt und der die Probe durchdringende Anteil des Infrarotlichtes untersucht. Dies ist allerdings für undurchsichtige oder stark absorbierende Proben nicht durchführbar, da das Licht die Probe nicht durchdringen kann. Für SURMOFs oder magMOFs, die auf Silizium-Wafern bzw. Fe_3O_4 -Partikeln aufgebracht sind, kann diese Methode nicht verwendet werden.

2.2.1 Abgeschwächte-Totalreflexions-Infrarot-Spektroskopie (ATR)

Proben, die nicht für die Transmissionsmessungen geeignet sind, können jedoch durch Reflexionsmessungen für die IR-Spektroskopie zugänglich gemacht werden. Bei der von uns verwendeten Technik der abgeschwächten Totalreflexion (ATR) wird der IR-Strahl durch den ATR Kristall, ein optisch hoch brechendes Medium, geleitet.¹⁰⁰ Dieses fungiert als Lichtwellenleiter. An der Grenzfläche zwischen ATR Kristall und der optisch dünneren Probe, werden die Wellen total reflektiert (siehe Abb. 19).

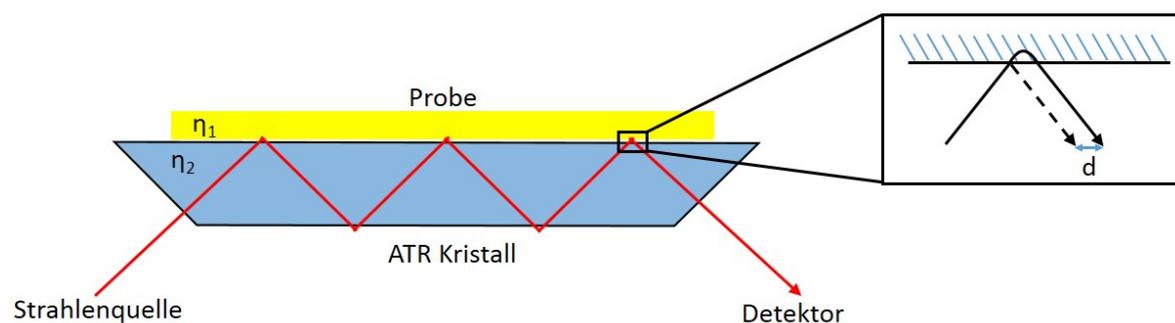


Abb. 19 Schematisch Darstellung der mehrfachen abgeschwächten Totalreflexion des IR-Strahls an der Grenzfläche des optisch dichteren ATR Kristalls (η_1) und der Probe (η_2).¹⁰¹

Bei jeder Totalreflexion dringen die Strahlen mit einer Reichweite von weniger als einer Wellenlänge in die Probe ein und können dort mit den vorhandenen funktionellen Gruppen wechselwirken. Den experimentellen Beweis für die Bildung dieser evaneszenten Welle an der Grenzfläche lieferten GOOS und HÄNCHEN, die zwischen der direkt reflektierten Welle an einer Metalloberfläche (gestrichelte Linie Abb. 19) und der durch abgeschwächte Totalreflexion erhaltenen Welle (durchgängige Linie) einen Gangunterschied d feststellen konnten.¹⁰¹ Durch das mehrfache Eindringen des Lichtes in die Probe, wird die Intensität der erhaltenen Absorptionsbanden erhöht. Eine Voraussetzung für die Totalreflexion an der Grenzfläche ist, dass die Probe einen wesentlich kleineren Brechungsindex haben muss, als der verwendete ATR Kristall. Das in dieser Arbeit verwendete Gerät ist das Bruker Optics Tensor 27 Spektrometer mit einem Bruker Optics Platinum® ATR Zubehör (Diamant, 1 Refl. 45 °C) und einem deuterierten Triglycinsulfat (RTDTGS) Detektor. Das Spektrum wurde bei Raumtemperatur mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} aufgenommen. Die beim ATR eingesetzte Technik der Lichtbrechung an der Grenzfläche ATR-Kristall/Probe wird als interne Reflexion bezeichnet.

2.2.2 Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS)

Bei der IRRAS Spektroskopie, wird die IR-Strahlung auf einer Metalloberfläche mit der sich darauf befindenden dünnen Probe reflektiert, dies wird im Gegensatz zum zuvor beschriebenen ATR als externe Reflexion bezeichnet.¹⁰² Die Sensitivität dieser Technik ist so hoch, dass sehr dünne Filme, bis hin zu einer Monolage von Molekülen detektiert werden können. Diese hohe Sensitivität hat im Wesentlichen zwei Gründe, zum einen wird das Licht im streifenden Einfall auf die Probe gelenkt um eine möglichst große Wechselwirkungsfläche zu erhalten. Zum Anderen führt die Wechselwirkungen der an der Metalloberfläche reflektierten Strahlung mit den Elektronen des Metalls, zu speziellen Oberflächenauswahlregeln, die für die IRRAS-Spektroskopie beachtet werden müssen. Die elektromagnetische Welle hat einen elektrischen Feldvektor E und einen magnetischen

Feldvektor B , die beide senkrecht zu der Ausbreitungsrichtung der Welle oszillieren. Bei polarisiertem Licht oszilliert der elektrische Vektor E nur in einer definierten Ebene (siehe Abb. 20). Bei der Reflexionsmessung an der Oberfläche ist diese Information sehr wichtig, da die Intensität der Wechselwirkung von E mit dem Übergangsdipolmoment T des zu messenden Moleküls von dem Winkel zwischen E und T abhängt. Ist die Ebene von E also fest, kann man auf die Ausrichtung von T und somit auf die Struktur und Anordnung des Moleküls auf der Oberfläche schließen.

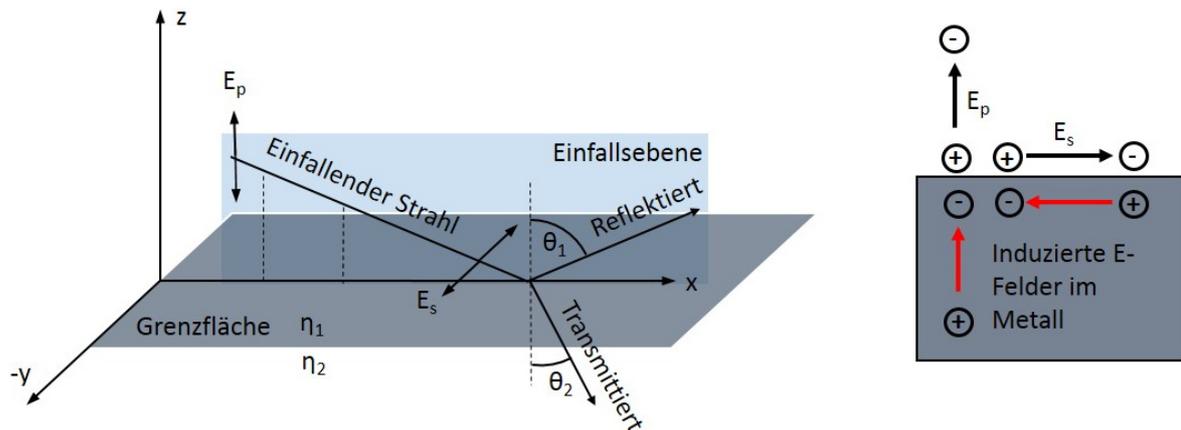


Abb. 20 Schematische Darstellung von Reflexion und Transmission eines polarisierten IR-Strahls an einer Grenzfläche zwischen zwei Substraten mit hohem (n_1) und niedrigem (n_2) Brechungsindex (links). Polarisation der Metalloberfläche durch p – bzw. s – polarisiertes Licht (rechts).¹⁰³

Ist der elektrische Feldvektor parallel zu der Einfallsebene der Strahlung (siehe Abb. 20), spricht man von p-polarisiertem Licht (E_p), steht er senkrecht zur Einfallsebene, von s-polarisiertem Licht (E_s). Das E-Feld des s-polarisierten Lichtes induziert eine Bewegung der Elektronen im Metall, die ein dem E_s entgegengerichtetes E-Feld in der Metalloberfläche hervorruft. Diese beiden E-Felder heben sich gegenseitig auf, so dass s-polarisiertes Licht keinen Beitrag zur Messung liefert. Das zur Oberfläche senkrecht stehende E-Feld der p-polarisierten Strahlung hingegen, induziert ein gleichgerichtetes E-Feld in der Oberfläche, so dass es zu einem verstärkenden Effekt kommt. Für die von uns verwendeten, mit Gold beschichteten Silizium Substrate, ergibt sich aus den berechneten Reflektivitätswerten eine bestmögliche Sensitivität für p-polarisiertes Licht mit einem Einstrahlwinkel von $\theta = 87^\circ$.¹⁰³

In dieser Arbeit wurden die IRRAS-Messungen mit einem Bruker VERTEX 80 FTIR Spektrometer durchgeführt. Die Messungen wurden bei einem Einfallswinkel von 80° und einer Auflösung von 2 cm^{-1} in trockener Luftatmosphäre durchgeführt. Als Referenzproben wurden, mit perdeuterierten Hexadecanthiol SAMs funktionalisierte Gold-Silizium-Wafer verwendet.

2.3 Oberflächenplasmonenresonanz - Spektroskopie

Die Oberflächenplasmonenresonanz (SPR) – Spektroskopie wird vor allem im biologischen Bereich zur Detektion der Absorption von größeren Biomolekülen an Metalloberflächen eingesetzt. Im Folgenden werden die Grundlagen dieser Technik zusammengefasst:

Die Valenzelektronen von Metallen werden wegen der Abschirmung innerer Schalen wenig von der Kernladung beeinflusst und können daher als frei bewegliches Elektronengas aufgefasst werden. Die Quasiteilchen der Oszillationen der Elektronendichte dieses Elektronengases lateral zur Metalloberfläche werden als Oberflächenplasmonen (SP aus dem Englischen, surface plasmon) bezeichnet. Diese werden von evaneszenten, elektromagnetischen Feldern begleitet, deren Intensität exponentiell mit dem Abstand zur Oberfläche abnimmt. Im Gegensatz zu den Oberflächenplasmonen werden die longitudinalen Wellen im inneren des Metalls als Volumenplasmonen (VP) bezeichnet. Die Oberflächenplasmonen können nicht einfach optisch angeregt werden, da die Resonanzbedingungen, das heißt Energie- und Impulserhaltung nicht erfüllt sind.

Um nun doch eine Anregung zu ermöglichen, müssen Energie, Impuls und Polarisation der anregenden Lichtwelle mit denen der Plasmonen angeglichen werden. Dies wird durch einen optischen Koppler (Prisma) realisiert, dabei wird das anregende Licht in ein Medium mit höherer optischer Dichte eingekoppelt. Dabei kommt es an der Grenzfläche Prisma/Probe zu einer Totalreflexion bei der die Vektoren des Impulses und der Energie anhand des Einfallwinkels auf die der Oberflächenplasmonen angeglichen werden können und es in Folge dessen zu einer Anregung kommt.

Diese Anregung wird als Oberflächenplasmonenresonanz bezeichnet. Wird die Intensität des totalreflektierten Lichtes als Funktion des Einfallwinkels aufgezeichnet, ist die Plasmonenanregung als scharfes Minimum bei einem bestimmten Resonanzwinkel α zu erkennen (siehe Abb. 21)

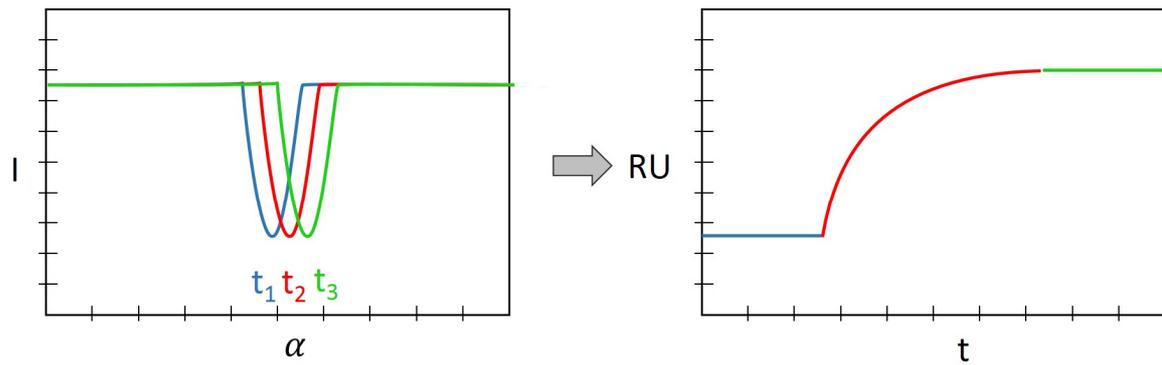


Abb. 21 Schematische Zeichnung des Intensitätsminimums des eingestrahlt Lichtes bei einem bestimmten Resonanzwinkel α (links). Das resultierende Diagramm ist die Darstellung des Oberflächenplasmonensignals in Resonanzeinheiten (RU) gegen die Zeit (t) (rechts).

Die Resonanzbedingung während der Messung ist also abhängig von folgenden Parametern: (a) Einfallswinkel (b) Brechungsindizes (c) Wellenlänge des einfallenden Lichtes. Da die Wellenlänge während des Experiments konstant gehalten wird, lassen sich Änderungen des Brechungsindex an der Oberfläche des Metallfilms durch Änderung des Resonanzwinkels detektieren. Die Anbindung von Biomolekülen auf einer Goldoberfläche verursachen Änderungen des Brechungsindex und können daher mithilfe der SPR Spektroskopie nachverfolgt werden. Dabei entspricht eine Änderung des Resonanzwinkels α um 0.1° - 1000 RU (resonance units) und korrespondiert mit einer Oberflächenadsorption von 1 ng/mm^2 .

Für die in dieser Arbeit gezeigten Messungen wurde das kommerzielle SPR-Spektrometer Biacore 3000 verwendet.

2.4 UV-VIS Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie

Bestrahlt man Proben mit elektromagnetischer Strahlung im UV (200 – 400 nm) oder im sichtbaren Bereich (400 – 750 nm), können diese von den Molekülen der Probe absorbiert werden. Dabei werden die Elektronen der äußeren Orbitale vom Grundzustand in einen angeregten Zustand angehoben.¹⁰⁴ Da diese Übergänge nur zwischen diskreten Energieniveaus geschehen können, ist jedem Übergang eine spezifische Energie, bzw. dazugehörige Wellenlänge zugeordnet. Dieser Vorgang kann als Intensitätsabnahme des durchgestrahlten Lichtes in Absorptionsmessungen beobachtet werden. Da die angeregten Zustände nicht die energiegünstigsten Zustände sind, wird das Elektron nach einer Verweildauer von 0.1 – 100 ns wieder in den Grundzustand zurückfallen. Die gewonnene Energie kann als Strahlung emittiert werden (Fluoreszenz) oder als strahlungslose Desaktivierung (internal conversion) in Form von Schwingung erfolgen. Die möglichen Elektronenübergänge beim Absorptions- und Emissionsprozess werden im Jablonski-Schema beschrieben.¹⁰⁵

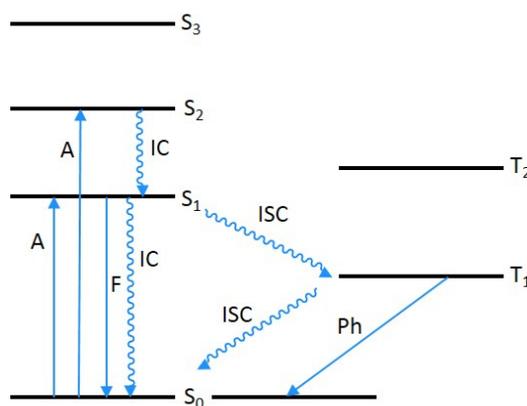


Abb. 22 Vereinfachtes Jablonski-Diagramm, veranschaulicht die verschiedenen Elektronenübergänge und Konfigurationen. (A) Absorption (F) Fluoreszenz (Ph) Phosphoreszenz (IC) internal converting (Strahlungslos), (ISC) intersystem crossing (Strahlungslos) (S_n) Singulettzustand in den verschiedenen Schwingungsniveaus. (T_n) Tripletzustand

Durch Spinumkehrprozesse können die Elektronen vom angeregten Singulett-Zustand S_1 in einen Triplet Zustand T_1 überführt werden. Diese können entgegen eines Spinverbotes durch Emission (Phosphoreszenz) in den Singulett-Grundzustand zurückkehren. Aufgrund dieses Spinverbotes tritt die Phosphoreszenz mit einer Verzögerung von etwa 0.1 μ s bis 100 s nach dem Abklingen der Anregungsstrahlung auf und wird daher auch als verzögerte Emission bezeichnet.

2.4.1 Absorptionsspektroskopie

Bestrahlt man die Probe in Transmission, kann in der resultierenden Intensität I des eingestrahlten Lichtes I_0 eine Änderung gemessen werden ($I = I_0 - I_{abs}$). I_{abs} beschreibt hierbei das von der Probe absorbierte Licht. Daraus ermittelten Lambert und Beer eine gesetzmäßige Abhängigkeit der für einen Stoff charakteristischen Absorbanz A .

$$A_{ges} = \log \frac{I_0}{I} = d \sum_{i=1}^n \varepsilon_i c_i \quad (2.7)$$

Aus der Absorbanz A einer Probe für verschiedene Wellenlängen erhält man eine Absorptionskurve $\varepsilon(\lambda)$ aus der man die Banden der einzelnen Elektronenübergänge ablesen kann.

Die Einteilung der Banden erfolgt über die an dem Elektronenübergang beteiligten Orbitale. So können Elektronen aus besetzten, bindenden σ - oder π – Orbitalen in leere, antibindende σ^* - und π^* -Orbitale angehoben werden, diese Übergänge werden dementsprechend mit $\sigma \rightarrow \sigma^*$ und $\pi \rightarrow \pi^*$ bezeichnet.

2.4.2 Fluoreszenzspektroskopie

Bei der UV-VIS Emissionsspektroskopie, auch Fluoreszenzspektroskopie genannt, wird die von der Probe emittierte Strahlung gemessen, die beim Zurückfallen des angeregten Elektrons in den Grundzustand frei wird (siehe Abb. 22). Dies kann wie oben beschrieben, in strahlungslosen Übergängen erfolgen, wobei die elektronische Energie in Schwingungsenergie umgewandelt wird, oder unter Emission von einer, für den Übergang charakteristischen Strahlung $h\nu$. Dieses Phänomen wird als Fluoreszenz bezeichnet und tritt typischerweise etwa 0.1 – 100 ns nach Beginn der Anregung auf. Das Absorptions- und das Emissionsspektrum einer Probe müssen nicht immer gleich sein, da nicht alle lichtabsorbierenden Gruppen eines Moleküls (Chromophore) gleichzeitig fluoreszierende Eigenschaften besitzen. Aromatische Kohlenwasserstoffverbindungen zeigen aufgrund des konjugierten π -Systems meist eine starke Fluoreszenz, deren Intensität mit der Anzahl der konjugierten π -Elektronen zunimmt.

Bei der Fluorimetrie wird die Fluoreszenz senkrecht zur Anregungsrichtung gemessen, vor den Detektor wird ein Emissionsmonochromator geschaltet um die Detektion von Streustrahlung zu vermeiden. Aufgetragen wird die Emission abhängig von der jeweiligen Anregungswellenlänge.

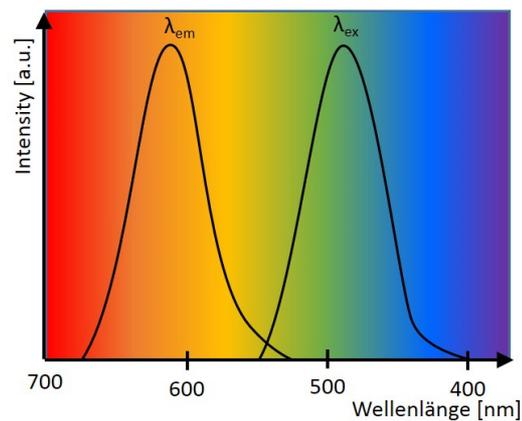


Abb. 23 Schematische Darstellung des Anregungs- und Fluoreszenzspektrums eines organischen Farbstoffmoleküls. Der hier dargestellte Farbstoff wird bei einer Wellenlänge λ_{ex} von 486 nm angeregt und emittiert bei $\lambda_{em} = 608$ nm.

Es wird bei der Fluorometrie zwischen Anregungs- und Fluoreszenzspektren unterschieden. Beim Anregungsspektrum wird die Intensität der Emission bei einer festen Emissionswellenlänge λ_{em} bei unterschiedlichen Anregungswellenlängen gemessen. Bei Emissionsspektren hingegen wird das Spektrum des emittierten Lichtes bei einer festen Anregungswellenlänge aufgenommen. Durch die verschiedenen Arten von Spektren lassen sich Informationen über die Nahumgebung des Fluorophors gewinnen, da diese einen direkten Einfluss auf die Fluoreszenz ausübt.

2.5 Optische Mikroskopie

Die optische Mikroskopie erlaubt es, kleine Objekte durch Lichtbrechung an einem Linsensystem optisch vergrößert darzustellen. Der Aufbau eines aufrechten Durchlichtmikroskops, wie es für diese Arbeiten verwendet wurde, besteht aus einer Lichtquelle, die am Fuß des Mikroskops angebracht wird. Der Kondensator fokussiert das Licht auf die auf dem Probestisch liegende Probe. Über der Probe befindet sich das Objektiv und der Beobachtungstubus mit den Okularen.¹⁰⁶

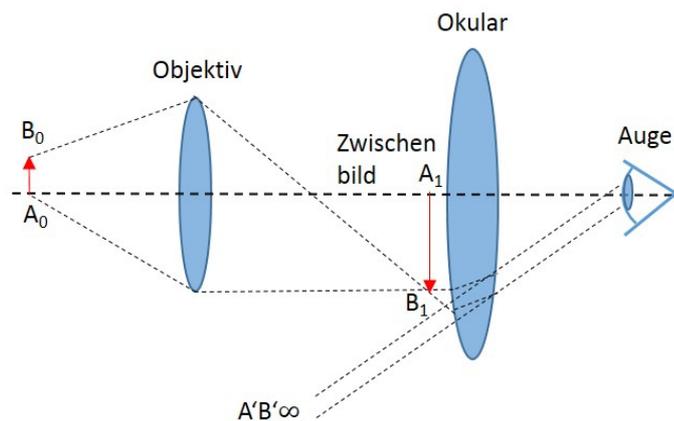


Abb. 24 Schematische Darstellung des Strahlengangs und der Bildentstehung im Lichtmikroskop. A_0B_0 stellt den zu vergrößernden Gegenstand dar, durch Brechung am Objektiv wird ein vergrößertes Bild A_1B_1 des Gegenstandes in der Brennebene des Okulars erzeugt.

Das Objektiv ist die wichtigste Einheit des Mikroskops, es liefert ein vergrößertes Zwischenbild (A_1B_1) des zu untersuchenden Gegenstandes (A_0B_0), der in Abb. 24 zu sehen ist. Das Zwischenbild A_1B_1 befindet sich in der vorderen Brennebene des Okulars, dadurch wird ein für das Auge sichtbares, virtuelles Bild $A'B'$ im Unendlichen erzeugt. Die Fokussierung erfolgt über die Veränderung des Abstandes zwischen der Probe A_0B_0 und dem Objektiv. Die Vergrößerung des Bildes kann mit der Wahl der Linsen optimiert werden, es gibt jedoch eine Auflösungsgrenze unter der man zwei Punkte nicht mehr voneinander getrennt auflösen kann. Diese Grenze wird von den Beugungseigenschaften des Lichtes limitiert und lässt sich nicht durch die Wahl der Apertur umgehen. Um einen Lichtstrahl zu bündeln und auf die Probe zu fokussieren, wird er durch Öffnungen und Linsen gelenkt. An den Rändern dieser Elemente wird das Licht gebeugt, so dass es nicht einen scharfen Lichtpunkt abbildet, sondern einen Lichtfleck mit einer ringförmigen Helligkeitsverteilung (Airy-Scheibchen). Zwei Punkte können nur dann scharf aufgelöst werden, wenn sich diese Scheibchen nicht überlappen. Mathematisch lässt sich diese laterale Auflösung Δx , die von der Apertur abhängig ist, mit dem Öffnungswinkel des Objektivs α , dem Brechungsindex des Immersionsmediums η und der Wellenlänge λ des verwendeten Lichtes beschreiben (siehe Gleichung 2.8).

$$\Delta x = \frac{0,61 \cdot \lambda}{\eta \sin \alpha} \quad (2.8)$$

Der vom Aufbau des Mikroskops bestimmte Wert im Nenner kann grob mit etwa 1,25 abgeschätzt werden. Damit erhält man eine laterale Auflösung von $\Delta x = 0.5 \lambda$. Zwei Punkte, die noch scharf voneinander getrennt abgebildet werden, müssen also bei der Verwendung von sichtbarem Licht etwa 200 - 300 nm voneinander entfernt liegen.

2.5.1 Fluoreszenzmikroskopie

Das in Kapitel 2.4 beschriebene Prinzip der Fluoreszenz, kann man sich auch in der Mikroskopie zu Nutze machen. Fluoreszenzmikroskope arbeiten mit einem Auflichtverfahren, bei dem ein halbdurchlässiger Spiegel zwischen Objektiv und Beobachtungstubus angebracht ist, der das von der Seite eingestrahlte Licht durch das Objektiv auf die Probe fokussiert (siehe Abb. 11) Die Fluoreszenzmikroskopie wird häufig für biologische Proben verwendet, da viele biologische Substanzen natürliche fluoreszierende Gruppen (Fluorophore) wie z.B. Chlorophyll besitzen, oder leicht mit fluoreszierenden Farbstoffen eingefärbt werden können.

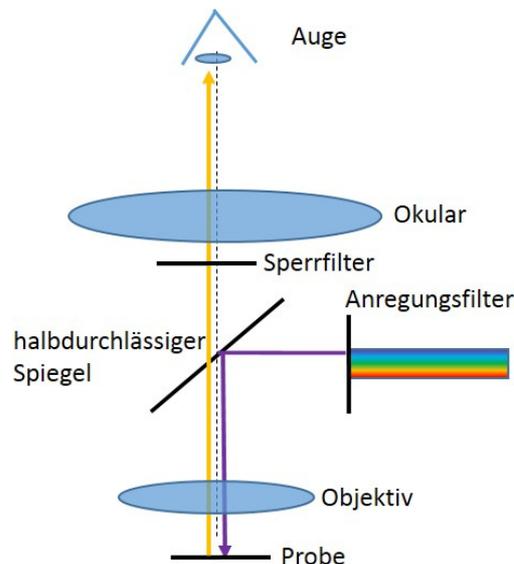


Abb. 25 Schematische Darstellung eines Fluoreszenz-Durchlichtmikroskops.

Während des Bestrahlens der Probe mit Licht im ultravioletten Bereich, wird im Detektor das von der Probe emittierte Licht detektiert. Dabei müssen das Anregungslicht und das Fluoreszenzlicht räumlich voneinander getrennt werden. Dies geschieht durch Anregungs- bzw. Sperrfilter. Der vom Sperrfilter durchlässige Bereich ist gegenüber dem Anregungsfilter zu höheren Wellenzahlen hin verschoben. Die Fluoreszenzmikroskopie

wird in dieser Arbeit vor allem für die Untersuchung der verschiedenen, auf dem SURGEL aufgetragenen Zellsysteme verwendet. Die Zellen werden nach einer Inkubationszeit mit einem fluoreszenten Farbstoff eingefärbt und unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht. So lassen sich Anzahl und Aufbau der Zellen gut bestimmen. Bei dem für diese Arbeit verwendeten Gerät, handelt es sich um ein Axio Observer Z1 Fluoreszenz Mikroskop mit einem Plan APOCHROMAT 63x/1.4/Öl Objektiv und dem Filterset mit 28 HE eGFP shift free EX BP 470/40, BS FT 495, EM BP 525/50 (Carl Zeiss, Inc., Jena, Deutschland).

2.6 Elektronenmikroskopie

Wie im Kapitel 2.5 diskutiert, wird die laterale Auflösung bei der Mikroskopie von der Wellenlänge der verwendeten Strahlung bestimmt. Mit der DE BROGLIE-Beziehung können die Wellenlängen von Elektronen bei verschiedenen Geschwindigkeiten zugeordnet werden.

$$\lambda = \frac{h}{m \cdot v} \quad (2.9)$$

Die Geschwindigkeit der Elektronen ist von der Beschleunigungsspannung U abhängig, bei in der Elektronenspektroskopie gängigen Spannungen zwischen 100 und 1000 kV, lassen sich so Wellenlängen berechnen, die sich im Bereich von etwa 1 – 4 pm bewegen.¹⁰⁷

Der Elektronenstrahl wird durch das Anlegen elektromagnetischer Felder im Instrument gelenkt. So können geeignete elektrische Felder analog zu optischen Linsen oder Blenden wirken und die Strahlung auf die Probe fokussieren.¹⁰⁸ Da Elektronen eine große Wechselwirkung mit jeglicher Materie aufweisen, müssen die Messungen im Vakuum, bei etwa 10^{-9} bar, durchgeführt werden. Dies führt zu Einschränkungen bei der Wahl der zu untersuchenden Proben. Für biologische Systeme wie etwa lebende Zellen kann die herkömmliche Elektronenmikroskopie zum Beispiel nicht verwendet werden.

Je nach Probenbeschaffenheit, kann die Elektronenmikroskopie in Reflexion oder in Transmission gemessen werden, die unterschiedlichen Techniken werden im Folgenden beschrieben.

2.6.1 Rasterelektronenmikroskopie (SEM)

Bei der Rasterelektronenmikroskopie (SEM von scanning electron microscopy) wird die von der Probenoberfläche reflektierte Elektronenstrahlung untersucht. Daher ist diese Methode für dickere Proben geeignet, bei denen eine Transmission der Elektronen nicht möglich ist.

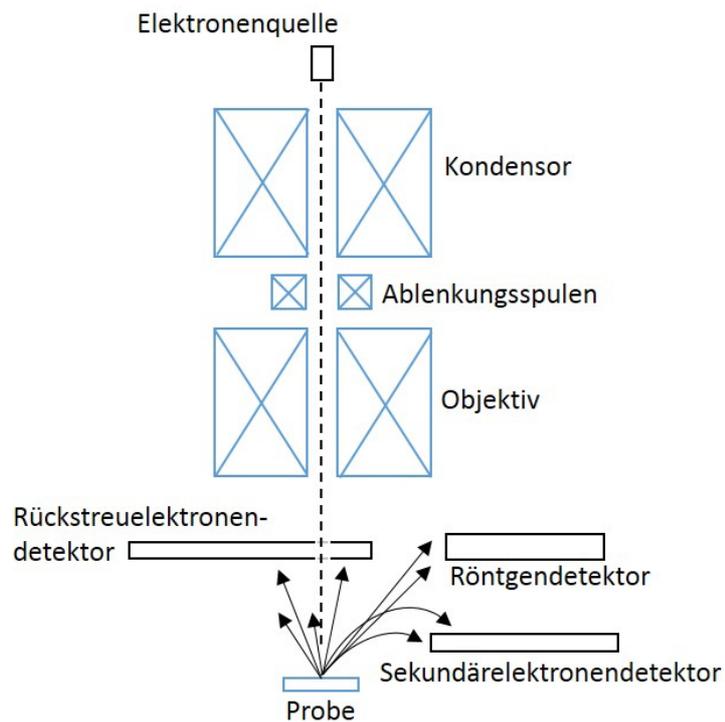


Abb. 26 Schematischer Aufbau eines Rasterelektronenmikroskops, der hier dargestellte Aufbau befindet sich im Vakuum bei etwa 10^{-9} bar.¹⁰⁷

Bei der Messung wird die Probe mit einem fokussierten Elektronenstrahl abgerastert. Dabei kommt es zu einer Vielzahl von Streuprozessen an der Oberfläche und es werden Elektronen mit einer sehr breiten Energieverteilung emittiert. Die Rückstreuerelektronen besitzen in etwa die gleiche Energie, wie die eingestrahlten Elektronen (1 - 100 keV). Durch Herausschlagen von Elektronen aus der Probenoberfläche werden sogenannte Sekundärelektronen emittiert, die eine sehr geringe kinetische Energie von einigen eV aufweisen. Durch das Abbremsen der Elektronen auf der Festkörperoberfläche wird zudem als Folge der elektronischen Übergänge im Festkörper elektromagnetische Strahlung emittiert, deren Bereich zwischen sichtbarem Licht und Röntgenstrahlung liegt. Für die quantitative Analyse wird meist nur die emittierte Röntgenstrahlung detektiert. Somit werden verschiedene Detektoren benötigt, die den jeweiligen Energien der zu detektierenden Strahlung entsprechen. Durch das „Abtasten“ der Probe mit dem Elektronenstrahl und der orts aufgelösten Auswertung der detektierten Stromstärken, kann die Oberflächenstruktur durch die Stromstärkenverteilung über die abgetastete Fläche visualisiert werden.

Für die Untersuchung von biologischen und nicht im Hochvakuum stabilen, oder porösen, nicht ausgeheizter Proben wie den SURGELS, kann in einem Spezialverfahren, dem Environmental Scanning Elektron Microscope (ESEM), in einem Modus mit nur leicht verringertem Druck bei etwa 1 – 10 mbar gemessen werden. Dabei ist die Atmosphäre mit

Wasserdampf gesättigt und wird dazu genutzt das Signal der aus der Probe herausgeschlagenen Sekundärelektronen zu verstärken. Dies geschieht durch eine Beschleunigung der Sekundärelektronen auf den Detektor, durch Stöße mit den Gasmolekülen werden aus diesen wiederum Elektronen herausgeschlagen, die zu einer Verstärkungskaskade führen. Die positiv geladenen Gasteilchen verhindern weiterhin eine negative Aufladung der Probe, die im normalen SEM Betrieb zu einer Ablenkung des Elektronenstrahls führen kann. So können im ESEM auch nicht leitende Proben ohne Bedampfung von Metallen auf die Oberfläche gemessen werden.¹⁰⁹

In dieser Arbeit wurden die SEM Bilder mit einem Philips XL 30 (FEI Co., Eindhoven, NL) aufgenommen. Als Elektronenquelle wurde eine Feldemissionskathode verwendet, die eine Elektronenstrahlung zwischen 15 und 30 keV zur Verfügung stellt. Die Messungen wurden bei einem Druck von 0.7 – 1.0 Torr aufgenommen.

2.6.2 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Bei ausreichend dünnen Proben mit bis zu etwa 100 nm Dicke kann in Transmission gemessen werden, das heißt es werden die Elektronen detektiert, die die Probe passieren. Während bei SEM Messungen die inelastisch gestreuten Elektronen detektiert werden, werden bei der Transmission nur Elektronen betrachtet die elastisch, also ohne Energieverlust an der Probe gestreut werden oder diese ohne Wechselwirkungen passieren. Auch der Probenhalter muss für den Elektronenstrahl durchlässig sein, daher wird die Probe als dünner Film auf runde Gitter mit etwa 3 mm Durchmesser adhärirt. Der Detektor befindet sich hinter der Probe und detektiert die Intensitätsänderung der Strahlung nach dem Durchtreten der Probe. Zwischen Probe und Detektor befinden sich Blenden, die je nach Messmethode die elastisch gestreuten Elektronen oder die nicht an der Probe gestreuten Elektronen durchlassen.

Durch Detektion der Intensität der elastisch gebeugten Elektronenstrahlung, erhält man ein Dickenprofil, wobei die Intensität umso höher ist, je dünner und die Probe und je kleiner die Ordnungszahl der Atome der Probe ist. Für kristalline Proben erhält man zusätzlich eine Information über den atomaren Aufbau der Probe, da sich beim Beugen der Elektronen an einem regelmäßigen Atomgitter Beugungskontraste ausbilden, die Aufschluss über Atomabstand und Kristallinität liefern. Die Auflösung eines TEM liegt je nach Apertur und angelegter Beschleunigungsspannung bei etwa 0.5 nm.

Die in dieser Arbeit verwendeten TEM Bilder wurden in Kooperation mit dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie (LEM) des KIT gemessen.

2.7 Quarzkristall Mikrowaage mit Dissipationsaufzeichnung (QCM-D)

Mit einer Quarzkristall Mikrowaage können kleinste Massenänderung auf der Oberfläche eines speziellen Sensors nachgewiesen werden. Dieser Sensor besteht aus zwei Elektroden, die an einem Quarzkristallscheibchen befestigt sind. Wird an den Elektroden eine Wechselfspannung mit der richtigen Frequenz angelegt, schwingt der Quarzkristall mit einer spezifischen Resonanzfrequenz. Diese Frequenz ist abhängig von der Masse des Kristalls und verschiebt sich bei einer Massebeladung hin zu kleineren Frequenzen.

Durch die von Günter Sauerbrey aufgestellte Gleichung, die eine lineare Beziehung zwischen der Massenänderung (Δm) und der Änderung der Resonanzfrequenz (Δf) liefert, können mit den erhaltenen Frequenzen die Beladungen auf dem Kristall berechnet werden.¹¹⁰ Dabei ist A die Fläche des Schwingquarzes und Δd die Schichtdicke der Beladung.

$$\Delta f = -\frac{f_0 \Delta d}{d_q} = \frac{2f_0 \Delta m}{A\sqrt{\rho_q \mu_q}} = C \cdot \Delta m \quad (2.10)$$

Neben der Frequenz kann in der QCM-D auch noch die Dissipation erfasst werden, eine Größe, die die Dämpfung des Sensors aufzeichnet.¹¹¹ Für die Bestimmung der Dissipation wird die Geschwindigkeit der Schwingungsabnahme nach dem Abschalten der Spannung beobachtet. Systeme mit einer größeren Reibung verlieren pro Zyklus mehr Schwingungsenergie und kommen somit schneller zum Stillstand.

$$D = \frac{\Delta E}{2\pi E_{ges}} \quad (2.11)$$

Durch Formel 2.11 kann die Dissipation berechnet werden, dabei ist ΔE die Energie, die bei einer Schwingung verloren geht und E_{ges} die im System enthaltene Gesamtenergie. Die Dämpfung ist abhängig von den viskoelastischen Eigenschaften der Adsorbatschicht, da die Reibung von der Wechselwirkung des Adsorbats mit dem umgebenden Medium abhängt. Dies spielt vor allem bei Messungen in Flüssigkeiten eine große Rolle. Man kann durch die QCM-D-Messungen also simultan qualitative Aussagen über die Masse, das Schermodul und die Viskosität des absorbierten Filmes erhalten.

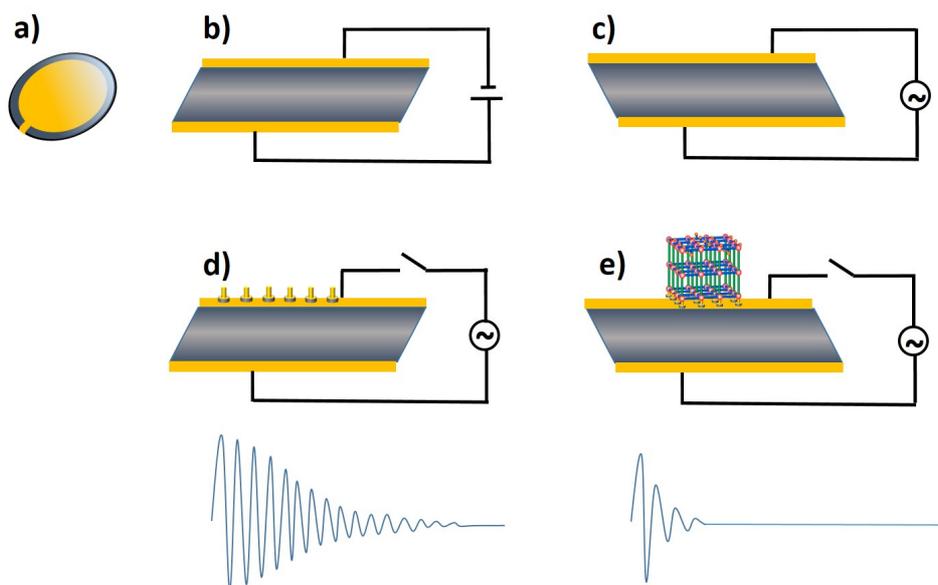


Abb. 27 Schematische Darstellung der Wirkungsweise einer QCM-D Messung. (a) Gold beschichteter QCM Sensor. (b) Das Anlegen eines elektrischen Feldes resultiert in einer Scherbewegung des Kristalls. (c) Durch Anlegen eines oszillierenden Feldes kann eine Resonanzschwingung im Sensor angeregt werden. (d) Messung der Dissipation durch Auftragung des Abklingens der Resonanzschwingung des mit dem SAM funktionalisierten Sensors nach dem Abschalten der Spannung. (e) Dissipationsmessung nach dem SURMOF-Wachstum, durch eine größere Reibung verliert der Sensor mehr Schwingungsenergie pro Schwingung.¹¹²

In dieser Arbeit wurde das *in-situ* SURMOF-Wachstum mit der QCM-D nachverfolgt, wobei mit Gold beschichtete Schwingquarzkristalle verwendet wurden, die vor dem Wachstum mit einer selbstassemblierenden Monolage (SAM) von Mercaptoundekanol (MUD) funktionalisiert wurden.

2.8 ToF-SIMS

Die Flugzeitsekundärionenmassenspektrometrie oder (Time of Flight Secondary Ion Mass Spectrometrie) ToF-SIMS ist eine massenspektrometrische Messmethode. Die prinzipielle Wirkungsweise der Massenspektrometrie besteht darin, Teile einer Probe zu ionisieren, die ionischen Fragmente in die Gasphase zu bringen, nach ihrem Masse- zu Ladungsverhältnis (m/z) zu trennen und anschließend zu detektieren. Die ionischen Fragmente entstehen durch chemische Zerfallsprozesse während der Ionisierung, und führen so zu charakteristischen Bruchstücken, anhand derer die chemische Zusammensetzung der Probe bestimmt werden kann. Sowohl die Ionisierung als auch die Detektion der Ionen finden im Hochvakuum statt, um ungewollte Zusammenstöße der Ionen zu vermeiden.

ToF-SIMS ist besonders gut für die Charakterisierung von Oberflächen geeignet, da es ein bildgebendes Verfahren ist (siehe Abb. 28). Die Metalloberfläche mit der sich darauf befindenden Probe wird mit einem Primärionenstrahl (z.B. Bi-Clustern oder C_{60}) beschossen. Dabei kommt es zu einer Ionisierung der obersten Moleküllagen und der Emission von Sekundärionen, die in Richtung des Detektors beschleunigt werden um sie dort, wie zuvor beschrieben, zu analysieren.

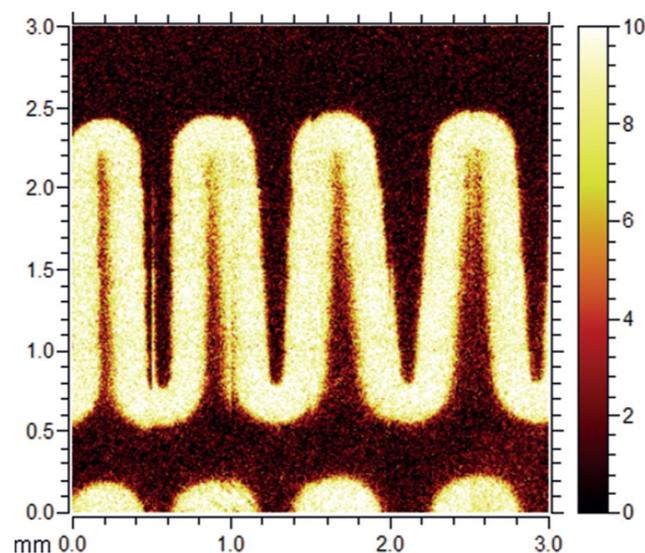


Abb. 28 Beispiel eines bildgebenden ToF-SIMS Scan eines mit einem Brom-haltigen Molekül strukturierten Silika Wafers. Durch die ortsabhängige Detektion der Brom-Isotope kann anschließend das gezeigte Bild berechnet werden. (Modifiziert übernommen aus ¹¹³)

Das in Abb. 28 dargestellte Beispiel zeigt das Bild eines Silika Wafers, der mit einem bromhaltigen Molekül funktionalisiert wurde. Anhand der ortsaufgelösten Detektion der Brom Isotope kann das dargestellte Bild berechnet werden.¹¹³

Als Detektor wird ein Flugzeitmassenspektrometer benutzt, das heißt alle aus der Probe herausgeschlagenen Sekundärionen werden auf die gleiche Energie beschleunigt.

Anschließend werden die jeweiligen Flugzeiten der Ionen für die gleiche zurückgelegte Strecke detektiert, leichtere Fragmente legen die Strecke in einer kürzeren Zeit zurück. Anhand der detektierten Ionen, sowohl atomare als auch Molekülfragmente, kann die Zusammensetzung der Probe quantitativ nachgewiesen werden. Je nach gewählter Energie des Primärionenstrahls kann die Ionisierungstiefe verändert werden. Meist werden nur die obersten Atomlagen ionisiert, womit durch das Abtasten der Probe ein genaues Bild der Oberflächenchemie und Funktionalisierung erhalten werden kann.¹¹⁴ Durch Einsetzen energiereicherer Primärionen, die nur auf eine Stelle der Oberfläche fokussiert werden, können aber auch Tiefenprofile erhalten werden. Die Probenmessungen wurden von Alexander Welle an einem TOF.SIMS5 von ION-TOF, Münster, durchgeführt.

3 MATERIAL UND EXPERIMENTE

3.1 Materialien

Die Gold-Substrate (5 nm Titan und 100 nm Gold auf (100) Silizium Einkristall Wafern und die mit 150 nm Gold beschichteten Glimmer Substrate) wurden von Georg Albert-Physical Vapor Deposition (Silz) bereitgestellt.

Die MagPrep 100®Silica Partikel wurden von Merck KGaA bezogen und die für das kristalline MOF-Wachstum notwendige Oberflächenfunktionalisierung wie in Kapitel 3.2.2 im Detail diskutiert, durchgeführt.⁵⁶

(11-Mercaptoundecyl)tetra(ethylenglykol) (90 %), (11-Mercaptoundecyl)hexa(ethylen glykol) (90 %), 2,2'-diamino-4,4'-stilbenedicarbonsäure (90 %), 16-Mercaptohexadecansäure (MHDA, 99 %), 11-Mercapto-1-Undekanol (MUD, 99 %), Kupfer(II) Acetat Monohydrat (98 %), Zink(II) Acetat Dihydrat (≥ 98 %), Tetrakis (acetonitril) Kupfer(I) hexafluorophosphat ($\text{Cu(I)(CH}_3\text{CN)}_4\text{PF}_6$, 97 %), 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]Oktan (Dabco, ≥ 99 %), Alkyne MegaStokes dye 608, Ethanol (99.99 %), Methanol (≥ 99.9 %), Tetrahydrofuran (THF, ≥ 99.9 %) und Toluol (≥ 99.9 %) wurden von Sigma Aldrich erworben. Trimethyloethan, Propiolsäure, p-Toluolsulfonsäure Monohydrate wurden von Alfa Aesar geliefert. 450-Amino Naphthalimide Alkyne und 550-Red Oxazine Alkyne wurden von Active M Motive bezogen, Trimethylsilylazid bei Acros Organics und tert-Butylnitrit bei ABCR.

Alle nicht weiter gekennzeichneten Chemikalien wurden und ohne weitere Aufreinigungen verwendet.

3.2 Vorbereitung der Substrate

3.2.1 Funktionalisierung der Gold Substrate

Vor der Schritt-für-Schritt Synthese der SURMOFs, müssen die verwendeten Substrate mit der jeweiligen funktionellen Gruppe terminiert werden. Für die mit Gold beschichteten Silizium und Glimmer Substrate wird dies mittels eines SAMs realisiert. Dafür werden die Substrate in eine organische Thiol-Lösung eingelegt, dessen omega Substituent die gewünschte Funktion exponiert. Die Wirkungsweise der SAMS und die Auswirkungen auf die spätere Orientierung der SURMOF Filme wurden in Kapitel 1.2.1.1 ausführlich diskutiert.

3.2.1.1 Oberflächenfunktionalisierung mittels MHDA

Für -COOH terminierte Oberflächen wird 16-Mercaptohexadecansäure (MHDA aus dem englischen: Mercaptohexadecanoic acid) verwendet. Das mit Gold beschichtete Silizium- oder Glimmer-Substrat wird für 48 h bei Raumtemperatur in eine 20 μ M MHDA-Lösung in Ethanol eingelegt. Der MHDA Lösung werden zusätzlich 5 % Essigsäure beigesetzt, da reines MHDA unter Ausbildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen zur Bildung von Dimeren neigt.^{115,116} Zusätzlich sorgt die Essigsäure dafür, dass der COOH-SAM in der vollständig protonierten Form vorliegt.¹¹⁷ Anschließend werden die Substrate mit Ethanol gespült, in einem trockenen Stickstoffstrom getrocknet und sofort für die SURMOF Synthese verwendet.

3.2.1.2 Oberflächenfunktionalisierung mittels MUD

Für eine -OH Terminierung werden die Substrate für 24 Stunden bei Raumtemperatur in eine 1 mM Mercaptoundekanol (MUD) Ethanol Lösung eingelegt. Anschließend werden die Substrate mit Ethanol gespült, in einem trockenen Stickstoffstrom getrocknet und sofort für die SURMOF-Synthese verwendet.

3.2.2 Funktionalisierung der magnetischen Nanopartikel

Als Substrate für die Synthese der magMOFs werden magPrep®Silica Partikel von Merck KGaA verwendet. Die aus Magnetit (Fe_3O_4) bestehenden Partikel mit einem Durchmesser von etwa 100 nm sind mit etwa 5 nm SiO_2 beschichtet. Um ein kristallines und homogenes MOF Wachstum zu ermöglichen, werden die Partikel vor der Synthese mit

–COOH-Gruppen funktionalisiert. Die genaue Syntheseprozedur wurde ausführlich in vorhergehenden Arbeiten diskutiert.⁵⁶ Im Folgenden werden die prinzipiellen Schritte der Oberflächenfunktionalisierung beschrieben.

Im ersten Schritt werden die Hydroxy-Gruppen der Silica-Schicht mit (3-Aminopropyl)-Triethylsilan (APTES) funktionalisiert. Dabei werden die Silylether in einer Kondensationsreaktion mit den auf der Oberfläche verankerten Silanolen umgesetzt (Abb. 29)

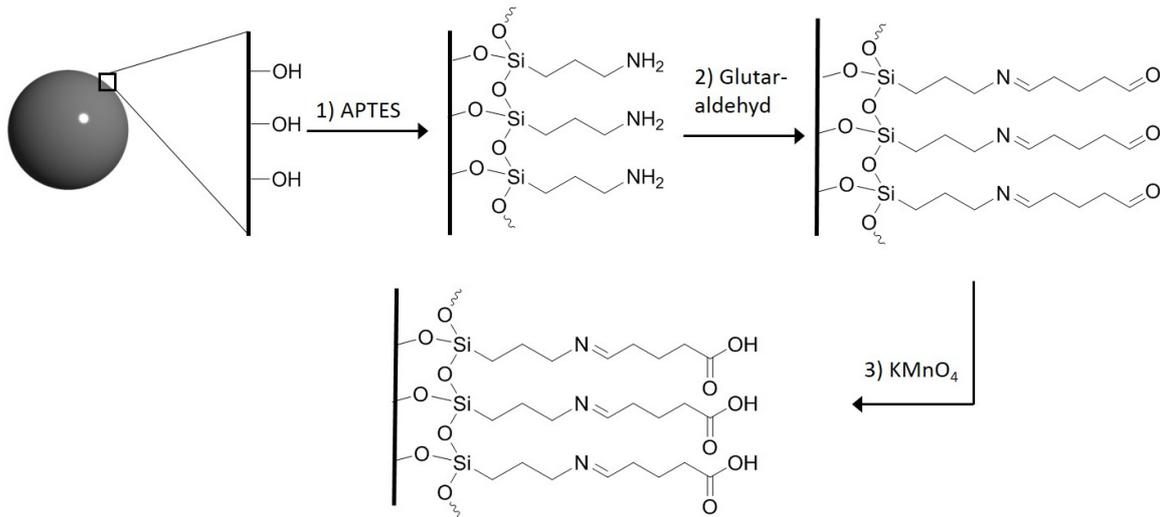


Abb. 29 Schematische Darstellung der Funktionalisierung der OH terminierten magnetischer Nanopartikel (1) Silylierung der Partikel mit APTES (2) Weitere Funktionalisierung der Amin Gruppen des APTES mit Glutaraldehyd unter Bildung eines Imins (3) anschließende Oxidation der endständigen Aldehyde zu Carbonsäuren mit Kaliumpermanganat.

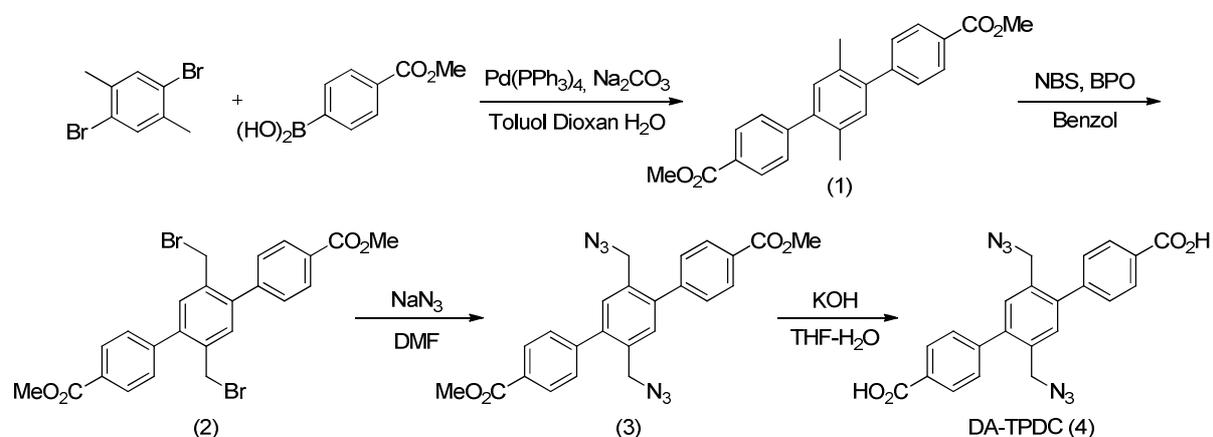
Anschließend werden die nun mit Amingruppen terminierten Partikel in einer Kondensationsreaktion unter Bildung eines Imins mit Glutaraldehyd umgesetzt. In einem letzten Schritt werden die endständigen Aldehyde mit Kaliumpermanganat zu Carbonsäuren oxidiert.

3.3 Synthese der organischen Linkermoleküle

Die in dieser Arbeit verwendeten Linkermoleküle sind nicht kommerziell erhältlich. Die Synthese der Azid-funktionalisierten Linker wurden von Sylvain Grosjean in einer Kooperation mit Prof. Bräse am Institut für biologische Grenzflächen des KITs durchgeführt.

3.3.1 Bis(azidomethyl)-terphenyldicarbonsäure (BA-TPDC)

Die Synthesevorschrift für Bis(Azidomethyl-)Terphenyldicarbonsäure (BA-TPDC) wurde aus der Literatur übernommen.¹¹⁸



Schema 1 Reaktionsschema der BA-TPDC Linkersynthese, durchgeführt von Sylvain Grosjean am Institut für Biologische Grenzflächen (IBG) am KIT.

Dimethyl 2',5'-dimethyl-[1,1':4',1''-terphenyl]-4,4''-dicarboxylate (1). 2,5-dibromo-p-xylene (3.00 g, 11.37 mmol, 1 eq), 4-Methoxycarbonylphenylboronsäure (6.14 g, 34.10 mmol, 3 eq), Tetrakis(triphenylphosphin)Palladium(0) (0.66 g, 0.57 mmol, 0.05 eq) und Natriumcarbonat (9.64 g, 90.92 mmol, 8 eq) wurden unter Argonatmosphäre zu einer entgasten Mischung aus Toluol, Dioxan und Wasser gegeben (450 mL, 2/2/1). Die Mischung wurde unter Rückfluss für 72 h unter Argon refluxiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die übrig bleibende wässrige Suspension wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser und einer gesättigten, wässrigen Natriumchlorid gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch auf gereinigt (Silica Gel, Dichlormethan / n-Hexane) (**1**) wurde als weißer Feststoff erhalten (2.29 g, 54%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.11 (d, 4H, J = 8.5 Hz, CH_{Ar}), 7.45 (d, 4H, J = 8.5 Hz, CH_{Ar}), 7.16 (s, 2H, CH_{Ar}), 3.96 (s, 6H, CO₂CH₃), 2.28 (s, 6H, ArCH₃) ppm. ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 167.1 (CO₂CH₃), 146.4 (C^{IV}), 140.5 (C^{IV}), 132.8 (C^{IV}), 131.8 (CH_{Ar}), 129.6 (C^{IV}), 129.4 (CH_{Ar}), 128.8 (CH_{Ar}), 52.2 (CO₂CH₃), 19.9

(ArCH₃) ppm. IR (ATR): $\nu = 2991, 2945, 1713, 1608, 1519, 1492, 1437, 1385, 1279, 1193$ cm⁻¹. MS (EI) $m/z = 374$ [M⁺], 343 [M⁺-OCH₃], 315 [M⁺-CO₂CH₃]. HRMS (EI) m/z C₂₄H₂₂O₄, berechnet: 374.1518, gefunden: 374.1519.

Dimethyl 2',5'-Bis(Bromomethyl)-[1,1':4',1''-Terphenyl]-4,4''-Dicarboxylat (2).

Verbindung (1) (1.20 g, 3.21 mmol, 1 eq) und *N*-Bromosuccinimid (NBS) (1.26 g, 7.05 mmol, 2.2 eq) werden in 60 mL Benzol gelöst. Nach Einleiten von Argon für 30 Minuten, wird Benzoylperoxide (16 mg, 0.06 mmol, 0.02 eq) zu der Mischung gegeben und für 24 Stunden refluxiert. Die Reaktionsmischung werden auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert. Der Rückstand wird in Methanol aufgenommen und filtriert um Produkt (2) als weißen Feststoff zu erhalten (1.66 g, 97%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.16$ (d, 4H, $J = 8.0$ Hz, CH_{Ar}), 7.58 (d, 4H, $J = 8.0$ Hz, CH_{Ar}), 7.44 (s, 2H, CH_{Ar}), 4.42 (s, 4H, ArCH₂Br), 3.97 (s, 6H, CO₂CH₃) ppm. ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 166.9$ (CO₂CH₃), 143.9 (C^V), 141.4 (C^V), 135.8 (C^V), 133.0 (CH_{Ar}), 129.9 (CH_{Ar}), 129.8 (C^V), 129.2 (CH_{Ar}), 52.2 (CO₂CH₃), 30.9 (ArCH₂Br) ppm. IR (ATR): $\nu = 2946, 1710, 1610, 1490, 1413, 1388, 1276, 1191$ cm⁻¹. MS (EI) $m/z = 534-532-530$ [M⁺], 453-451 [M⁺-Br]. HRMS (EI) m/z C₂₄H₂₀Br₂O₄, berechnet: 529.9728, gefunden: 529.9727.

Dimethyl 2',5'-Bis(azidomethyl)-[1,1':4',1''-Terphenyl]-4,4''-Dicarboxylat (3).

Verbindung (2) (0.75 g, 1.41 mmol, 1 eq) und Natriumazid (0.19 g, 2.96 mmol, 2.1 eq) werden in trockenem DMF (30 mL) gelöst und für 4 h unter Argonatmosphäre bei 60 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und mit einem großen Überschuss an Ethylacetat verdünnt und anschließend zuerst mit konzentrierter, wässriger Natriumchlorid Lösung und dann mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum abrotiert, (3) kann als weißer Feststoff (0.63 g, 98%) erhalten werden. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.15$ (d, 4H, $J = 8.5$ Hz, CH_{Ar}), 7.49 (d, 4H, $J = 8.5$ Hz, CH_{Ar}), 7.43 (s, 2H, CH_{Ar}), 4.33 (s, 4H, ArCH₂N₃), 3.97 (s, 6H, CO₂CH₃) ppm. ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 166.9$ (CO₂CH₃), 144.0 (C^V), 141.2 (C^V), 133.3 (C^V), 131.6 (CH_{Ar}), 130.0 (CH_{Ar}), 129.9 (C^V), 129.4 (CH_{Ar}), 52.4 (CO₂CH₃), 52.3 (ArCH₂N₃) ppm. IR (ATR): $\nu = 2953, 2088, 1716, 1607, 1436, 1338, 1272, 1180$ cm⁻¹. MS (EI) $m/z = 456$ [M⁺], 428 [M⁺-N₂]. HRMS (EI) m/z C₂₄H₂₀N₆O₄, berechnet: 456.1546, gefunden: 456.1548.

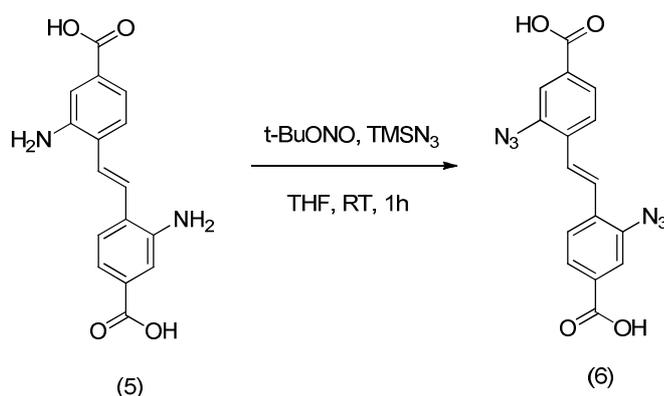
2',5'-Bis(azidomethyl)-[1,1':4',1''-Terphenyl]-4,4''-Dicarbonsäure (BA-TPDC) (4).

Verbindung (3) (0.30 g, 0.66 mmol, 1 eq) wird in Tetrahydrofuran (10 mL) gelöst. Eine gesättigte, wässrige Kaliumhydroxid Lösung (10 mL) wird dazugegeben und die Reaktionsmischung für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Das THF wird unter reduziertem Druck evaporiert und anschließend die wässrige Lösung mit einer 1 M HCl Lösung auf pH = 1 eingestellt. Die Reaktionsmischung wird einige Male mit Ethylacetat extrahiert, die

organischen Phasen kombiniert und anschließend mit Wasser, dann mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert um DA-TPDC als blass gelben Feststoff (0.27 g, 95%) zu erhalten. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.95$ (br-s, 2H, CO_2H), 8.07 (d, 4H, $J = 8.5$ Hz, CH_{Ar}), 7.57 (d, 4H, $J = 8.5$ Hz, CH_{Ar}), 7.55 (s, 2H, CH_{Ar}), 4.50 (s, 4H, ArCH_2N_3) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 167.1$ (CO_2H), 143.4 (C^{V}), 140.4 (C^{V}), 133.2 (C^{V}), 131.8 (CH_{Ar}), 130.1 (C^{V}), 129.5 (CH_{Ar}), 129.2 (CH_{Ar}), 51.3 (ArCH_2N_3) ppm. IR (ATR): $\nu = 2921, 2853, 2090, 1681, 1606, 1565, 1458, 1317, 1285, 1235$ cm^{-1} . MS (EI) $m/z = 428$ [M^+], 399 [$\text{M}^+ - \text{H} - \text{N}_2$], 386 [$\text{M}^+ - \text{N}_3$], 372 [$\text{M}^+ - \text{N}_4$], 341 [$\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{H} - \text{N}_3$]. HRMS (EI) m/z $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4$, berechnet: 428.1233, gefunden: 428.1237.

3.3.2 Synthese von 2,2'-diazido-4,4'-stilbendicarbonsäure(DA-SBDC) (6).

Die Synthese des DA-SBDC Linkers wurde von Sylvain Grosjean vom Arbeitskreis Prof. Bräse am Institut für biologische Grenzflächen durchgeführt. Die Synthesevorschrift wurde aus der Literatur übernommen.¹¹⁸



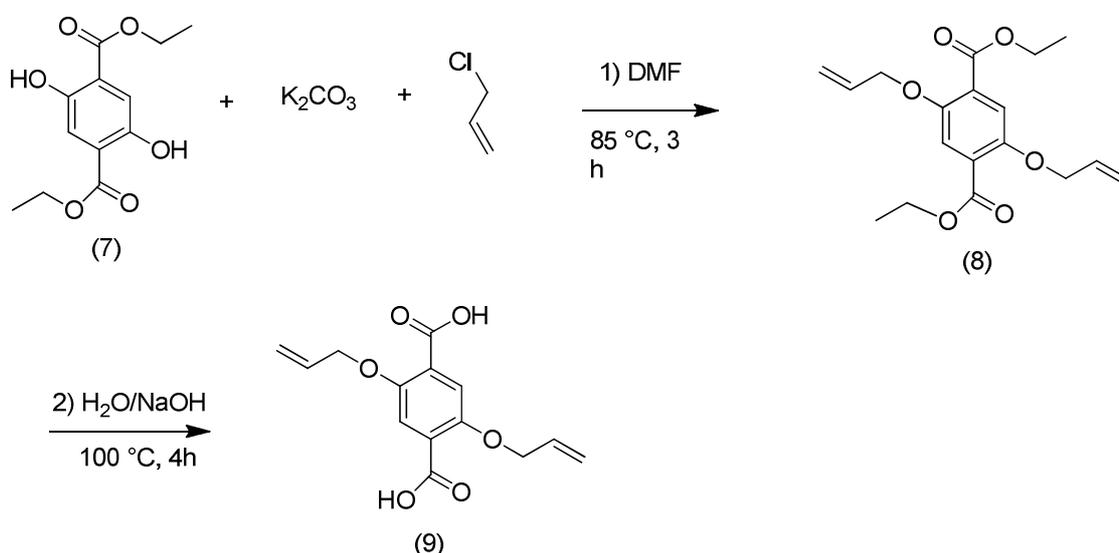
Schema 2 Reaktionsschema der Synthese des 2,2'-Diazido-4,4'-stilbenedicarbonsäure (DA-SBDC)(6).

2,2'-Diazido-4,4'-stilbendicarbonsäure (DA-SBDC) (6) – 2,2'-diamino-4,4'-stilbenedi-carbonsäure (5) (0.166 g, 0.56 mmol, 1 eq) wurde in trockenem Tetrahydrofuran (20 mL) in einem trockenen 50 mL Rundkolben suspendiert. Die Suspension wurde auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit *tert*-Butylnitrit (t-BuONO) (0.400 mL, 3.34 mmol, 6 eq) versetzt. Nach 15 min Rühren wurde Trimethylsilylazid (TMSN₃) (0.293 mL, 2.23 mmol, 4 eq) bei 0 °C langsam hinzugetrofft. Die Reaktionsmischung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 72 h gerührt. Das Tetrahydrofuran wurde unter reduziertem Druck abgezogen und das Produkt mit einer Mischung aus kaltem Methanol und Tetrahydrofuran (1/1, 20 mL) aufsuspendiert, filtriert und im Vakuum getrocknet. DA-SBDC (0.115 g, 0.33 mmol, 59%) konnte als gelber Feststoff erhalten werden. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 13.18$ (br-s, 2H, CO_2H), 7.90 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $\text{C5}/5'\text{H}_{\text{Ar}}$), 7.76 (s, 2H,

$\text{HC}=\text{CH}$), 7.75 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $\text{C}_6/6'\text{H}_{\text{Ar}}$), 7.50 (s, 2H, $\text{C}_3/3'\text{H}_{\text{Ar}}$) ppm. ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 166.2$ (CO_2H), 137.5 (C_{IV}), 131.7 (C_{IV}), 131.5 (C_{IV}), 127.1 ($\text{C}_5/5'\text{H}_{\text{Ar}}$), 125.9 ($\text{C}_6/6'\text{H}_{\text{Ar}}$), 125.7 ($\text{C}_3/3'\text{H}_{\text{Ar}}$), 119.7 ($\text{HC}=\text{CH}$) ppm. IR (ATR): $\nu = 3042, 2125, 1689, 1612, 1575, 1447, 1390, 1272, 1241$ cm^{-1} . MS (EI) $m/z = 350$ [M^+], 322 [$\text{M}^+ - \text{N}_2$], 294 [$\text{M}^+ - \text{N}_4$], 249 [$\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{H} - \text{N}_2$]. HRMS (EI) m/z $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_4$, calcd.: 350.0764, found: 350.0760.

3.3.3 Synthese von 2,5-Bis(allyloxy)-1,4-Benzoldicarbonsäure (BA-BDC)

Die Synthese der 2,5-Bis(allyloxy)-1,4-benzoldicarbonsäure (**BA-BDC**)(9) wurde analog zu einer literaturbekannten Vorschrift durchgeführt.¹¹⁹



Schema 3 Reaktionsschema der Synthese des BA-BDC Linkers, die Alkylierung des Diethyl-2,5-Bis(hydroxy)-1,4-Benzolcarboxylats (7) führt zu einem Zwischenprodukt (8). Durch Verseifung mit NaOH erhält man den BA-BDC Linker (9).

Diethyl-2,5-Dihydroxy-1,4-Benzolcarboxylat (7) (1.12 g, 4.40 mmol, 1 eq) und Kaliumcarbonat (2.76 g, 20.0 mmol, 4.5 eq) wurden in DMF (35 ml) suspendiert. Allylchlorid (0.69 ml, 0.73 g, 9.68 mmol, 2 eq) wurde tropfenweise unter Rühren zu der Reaktionsmischung gegeben. Nach vollständiger Zugabe des Allylchlorids wurde die Mischung für 3 h bei $85\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt um Verbindung (8) in einer Williamson Ethersynthese zu erhalten. Das organische Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck bei $70\text{ }^\circ\text{C}$ entfernt und die zurückbleibende Verbindung (8) ohne weiter Aufreinigung in H_2O (40 ml) gelöst und nach Zugabe von Natriumhydroxid (40 mg, 10.00 mmol, 2.3 eq) für 4 h refluxiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung mit wässriger HCl-Lösung (15 %) angesäuert. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das gelbliche Produkt mit 20 ml

Wasser gewaschen. Nach Trocknen im Vakuum für 16 h und Umkristallisation in heißem Methanol konnte **(BA-BDC)(9)** mit einer Ausbeute von (0.86 g, 78.2 %) erhalten werden. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-*d*6): δ (ppm) = 7.30 (s, 2H, Ar-H), 6.12 – 5.90 (m, 2H, CH), 5.52 – 5.36 (m, 2H, CH₂), 5.24 (dd, J=10.5 Hz, 2H, CH₂), 4.60 (dt, J = 4.6, 1.5 Hz, 4H, OCH₂).

3.3.4 Synthese von para-terphenyldicarbonsäure (TPDC)(10)

Die Synthese des TPDC Linkers **10** wurde von Sylvain Grosjean vom Arbeitskreis Prof. Bräse am Institut für biologische Grenzflächen durchgeführt. Die Synthesevorschrift wurde aus der Literatur übernommen.¹²⁰

Zu einer Lösung aus para-Terphenyl (1.5 g, 6.51 mmol) und Oxalylchlorid (3.35 ml, 39.00 mmol) in Kohlenstoffdisulfid (30 ml) bei 0 °C (Eisbad) wird Aluminiumchlorid (0.870 g, 6.51 mmol) hinzugegeben. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur für 24 Stunden gerührt. Die Mischung wurde anschließend auf Eis gegeben und gerührt bis die dunkelbraune Mischung eine gelbliche Farbe annimmt. CS₂ wurde unter reduziertem Druck entfernt und die zurückbleibende, wässrige Suspension gefiltert. Der Feststoff wurde mit verdünnter Salzsäure und anschließend mit Diethylether gewaschen und über Nacht im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das blassgelbe Produkt konnte in einer Ausbeute von 2.03 g, 98 % erhalten werden. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 300MHz, 298K): δ (ppm) 8.23 (d, J = 8.2Hz, 4H), 7.79 (d, J = 8.2Hz, 4H), 7.78 (m, 4H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl₃, 75MHz, 298K): δ (ppm) 168.2, 147.2, 139.7, 132.4, 132.3, 128.2, 127.6. MS (EI, 70 eV): m/z 318. Schmelzpunkt: > 400 °C.

3.3.5 Synthese von Trimethylethantriacrylat (11)

Die Synthese des trifunktionellen Alkin Sekundärinkers wurde von Artak Shahnas von der Arbeitsgruppe Prof. Lahann am Institut für Funktionelle Grenzflächen durchgeführt. Die Synthesevorschrift wurde aus der Literatur übernommen.¹²¹

Trimethylethantriacrylat – In einem trockenen, mit einem Wasserabscheider ausgestattet 250 mL Rundkolben, wurden Trimethylethan (1.0 g, 8.30 mmol) und *p*-Toluolsulfonsäure Monohydrate (160 mg, 0.83 mmol, 0.1 eq) in 70 mL trockenem Toluol gelöst. Propiolsäure (3.3 eq, 1.9 g, 27.4 mmol) wurde langsam zu der Reaktionsmischung getropft und unter Rückfluss erhitzt. Nach 2 Stunden wurde die leicht braune Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und in 70 mL Ethylacetat aufgenommen. Nach zweimaligem Waschen mit 5 % Natriumhydroxidlösung (2 x 20 ml) und gesättigter Natriumchlorid

Lösung, wurde das Produkt über trockenem Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels konnte das Produkt (2.1 g, 7.61 mmol, 91%) als gelbliches Öl erhalten werden. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 4.63$ (s, 3H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 4.13 (s, 6H, CH_2O), 0.98 (s, 3H, (CH_3), ppm. - $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 152.5$ ($\text{C}=\text{O}$), 80.1 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 74.8 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 23.1 (CCH_2), 15.2 (CCH_3) ppm. HRMS (EI) m/z $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_6$, berechnet: 276.0684, gefunden: 276.0686.

3.4 Synthese der Metall-organischen Gerüstverbindungen

3.4.1 SURMOF-Synthese auf Gold beschichteten Silizium- und Glimmersubstraten

Wie in Kapitel 1.2 beschrieben, werden die SURMOFs in einem quasi-epitaktischen Schritt-für-Schritt Verfahren auf die Substrate aufgebracht. Bei jedem Wachstumsschritt wird durch die jeweilige Funktionalisierung der Oberfläche nur eine Monolage an Metallionen bzw. Linkermolekülen chemisorbiert. Zwischen jedem Schritt wird so gründlich gewaschen, dass alle physisorbierten Moleküle von der Probe heruntergewaschen werden, nur so kann ein homogenes und orientiertes Wachstum der SURMOFs garantiert werden.

Für die Synthese stehen verschiedene, in den letzten Jahren in der Gruppe von Prof. Wöll entwickelte Techniken zur Verfügung um dieses Schritt-für-Schritt Wachstum zu optimieren. Für diese Arbeit verwendet wurden die Pumpenmethode⁵³, die Spraymethode⁵⁴ und das *in-situ* Wachstum in einer QCM-Zelle⁵⁵ verwendet. Die Methoden werden im Folgenden näher beschrieben.

3.4.1.1 Pumpenmethode

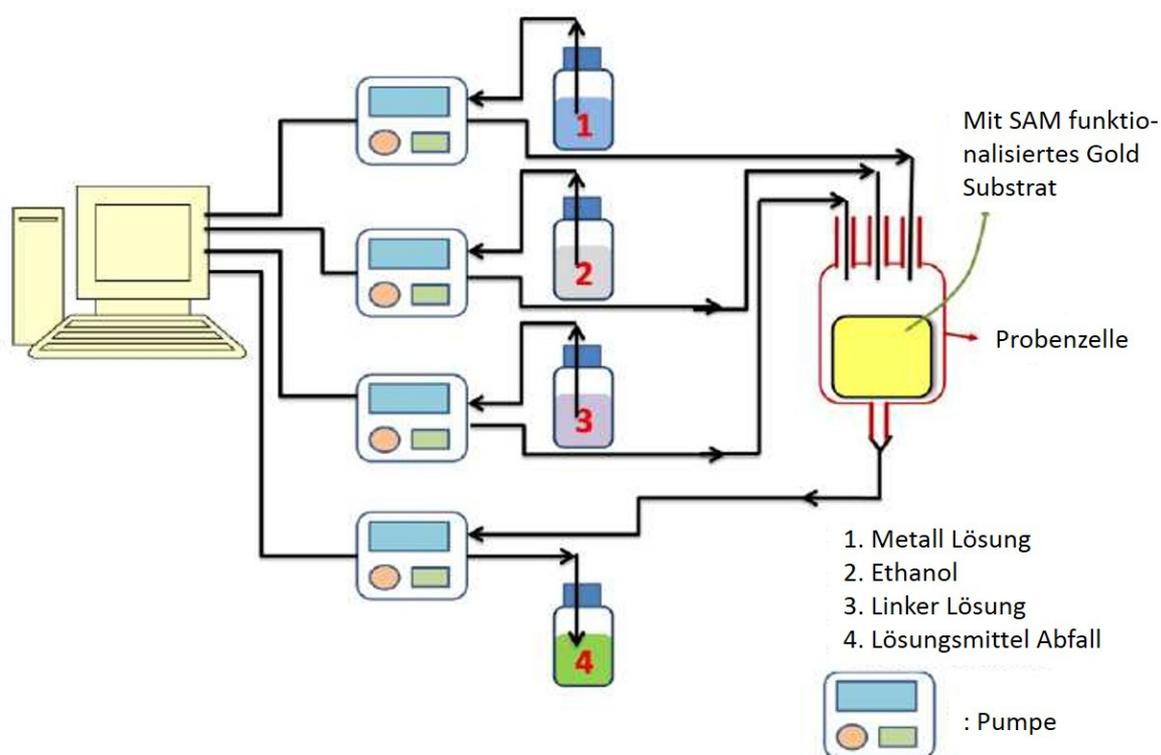


Abb. 30 Schematische Darstellung des Aufbaus der Pumpensystems zur Herstellung von SURMOFs.⁵³

Das mit dem SAM funktionalisierte Probensubstrat befindet sich in einer temperierten Probenzelle. Somit kann die Synthesetemperatur je nach SURMOF-System zwischen -20 °C und 100 °C variiert werden. In dem in Abb. 30 gezeigten, schematischen Aufbau des Pumpensystems sind die Lösungsmittelbehälter mit Zahlen gekennzeichnet. Für das Schritt-für-Schritt Wachstum, werden die Metallionen Lösung (1) und die organische Linker-Lösung (3) voneinander getrennt und durch ein Computersystem gesteuert, nacheinander abwechselnd in die Probenkammer gepumpt. Zwischendurch wird je zweimal mit dem in Behälter (2) befindlichen Ethanol gespült, um eine gründliche Reinigung der Probe und der Probenkammer zu gewährleisten. Am Boden der Probenkammer befindet sich ein Auslass durch den die Lösungen nach der gewünschten Reaktions-, bzw. Spülzeit aus der Kammer herausgepumpt und im Abfallbehälter (4) gesammelt werden. Jeder Lösungsmittel- bzw. Abfallbehälter ist mit einer separat ansteuerbaren Pumpe verbunden, so dass die Reaktions- und die Spülzeit für jede Lösung individuell einstellbar ist. Die Pumpenmethode erfordert lange Reaktionszeiten um eine perfekte Selbstanordnung der jeweiligen Moleküle zu gewährleisten. Im Folgenden wird die Syntheseprozedur detailliert dargestellt. Die Ansteuerung der Pumpen, das Einstellen der Reaktionszeiten und der jeweiligen Volumina wird von einem von Osama Schekah geschriebenen LabView Programm gewährleistet. Die in der folgenden Auflistung angegebenen Zahlen verweisen auf Abb. 30

1. Die Lösungsmittelbehälter werden mit den jeweiligen Lösungen befüllt und mit den Teflonschläuchen der Pumpen verbunden. (1) 400 ml der Metallsalz-Lösung (2) 1600 mL Ethanol zum Spülen (3) 400 ml der organischen Linker-Lösung
2. Das mit dem entsprechenden SAM funktionalisierte Gold Substrat wird mit Ethanol gespült, im trockenen Stickstoffstrom getrocknet und mit der Goldfläche nach Oben in die Probenkammer gelegt. Die doppelwandige Probenkammer wird auf die gewünschte Temperatur eingestellt.
3. 10 mL der Metallsalz-Lösung aus Behälter (1) werden in die Probenkammer gepumpt und nach einer Reaktionszeit von 15 min. durch den unten liegenden Auslass in den Abfallbehälter (4) entleert.
4. Die Probenkammer wird zwei Mal mit je 10 mL Ethanol von (2) für 3 min gespült und anschließend in Behälter (4) gepumpt um eine komplette Entfernung der nicht chemisorbierten Metallionen zu gewährleisten.
5. 10 mL der Linker-Lösung aus Behälter (3) werden für 30 min in die Reaktionskammer gegeben und wiederum in Kanister (4) weitergepumpt.
6. Analog zu 4. wird die Probenkammer zwei Mal mit Ethanol gespült.

7. Schritte 3-6 werden wiederholt bis die gewünschte Anzahl an Zyklen erreicht wird.

Nach der Synthese werden alle Proben mit Pulver-XRD und IRRAS Messungen charakterisiert. Die im Folgenden beschriebenen Synthesen wurden nach dem oben beschriebenen Grundprinzip durchgeführt, die jeweiligen Konzentrationen, verwendeten SAMs und Temperaturen werden individuell angepasst.

[Cu(DA-SBDC)(dabco)_{0.5}] – In Behälter (1) werden 400 mL einer [Cu(OAc)₂*H₂O] (1 mM, 0.4 mmol, 80 mg) Lösung in Ethanol gegeben. Behälter (2) wird mit 1600 mL Ethanol zum Spülen befüllt. Als Linker-Lösung in Behälter (3) werden 400 ml einer DA-SBDC (0.2 mM, 0.08 mmol, 28 mg) + dabco (0.2 mM, 0.08 mmol, 9 mg) Lösung in Ethanol eingefüllt. Der Gold-Wafer wird mit MUD funktionalisiert, die Synthesetemperatur wird auf 50°C eingestellt.

[Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] – Behälter (1) wird mit 400 mL einer [Zn(OAc)₂*2H₂O] (1.5 mM, 0.6 mmol, 131,4 mg) Lösung in Ethanol befüllt. Behälter (2) wird mit 1600 mL Ethanol zum Spülen befüllt. Als Linker-Lösung in Behälter (3) werden 400 ml einer BA-BDC (0.5 mM, 0.2 mmol, 55,6 mg) + dabco (0.5 mM, 0.2 mmol, 22,4 mg) Lösung in Ethanol eingefüllt. Der Gold-Wafer wird mit MUD funktionalisiert, die Synthesetemperatur wird auf 60°C eingestellt.

3.4.1.2 Sprühhmethode

Die Sprühhmethode wurde entwickelt, um die Synthese für größere Substrate zu optimieren. Das funktionalisierte Gold-Substrat wird senkrecht an den Probenhalter befestigt und frontal mit den Lösungen besprüht. Dabei werden die jeweiligen Lösungen fein zerstäubt und legen sich als dünne Lösungsmittelschicht auf den Wafer. Die neueste Generation der Sprühanlage hat bewegliche Düsenköpfe, so dass während des Sprühens größere Flächen abgefahren werden können und so Wafer bis zu 10x10 cm Größe ohne Probleme zu beschichten. Ein weiterer Vorteil der Sprühhmethode ist die schnellere Synthesezeit, ein Zyklus dauert ungefähr 2 min, womit die Synthesezeit im Gegensatz zu der Pumpenmethode auf etwa 3 % der ursprünglichen Zeit verkürzt wird. Zusätzlich wird für die Sprühhmethode weniger Lösungsmittel verbraucht.

AFM Untersuchungen haben gezeigt, dass das SURMOF Wachstum bei der Sprühhmethode im Vergleich zur Pumpe deutlich schneller ist. Während die Wachstumsrate bei der Pumpmethode für HKUST-1 etwa 1.3 nm pro Zyklus beträgt, steigt sie beim Sprühen auf etwa 10 nm pro Zyklus an.⁵⁴ Dies deutet darauf hin, dass trotz gründlichem Spülen noch

Moleküle des jeweils anderen Bausteins auf der Oberfläche vorhanden sind. Pro Sprühzyklus bilden sich also etwa 10 Lagen des SURMOFs aus, was auf einen komplexeren Wachstumsmechanismus hindeutet, der bis heute noch nicht komplett verstanden ist. Ein orientiertes Wachstum der SURMOFs ist trotz des mehrlagigen Wachstums auch bei dieser Synthesemethode gegeben.

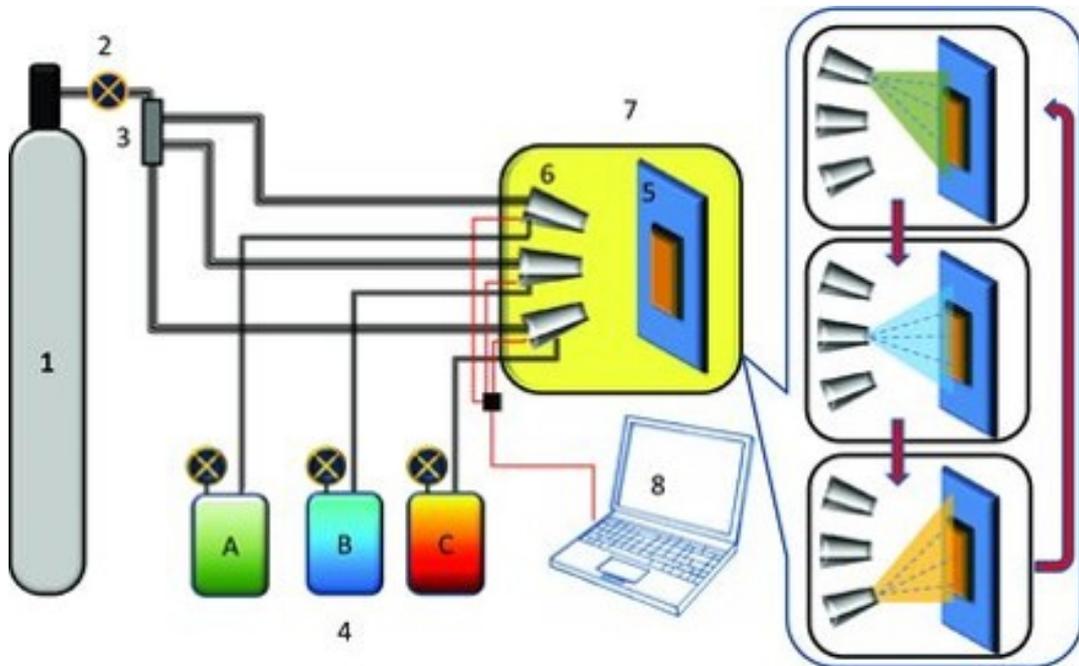


Abb. 31 Schematische Darstellung des Aufbaus der Sprühanlage zur Schritt-für-Schritt Synthese von SURMOFs.⁵⁴ (1) N₂-Gasflasche zur Druckerzeugung (2) Gasauslassventil (3) Dreiwegeventil (4) Lösungsmittelbehälter (5) Probenhalter (6) Sprühdüsen zum Zerstäuben der Lösungen (7) Darstellung eines Zyklus (oben) Metalllösung (Mitte) Spülvorgang mit Ethanol (unten) Linkerlösung (8) Computer.

Der in Abb. 31 dargestellte, schematische Aufbau der Sprühanlage zeigt die verschiedenen Komponenten. Die vorbereiteten Lösungen (A) Metall (B) Ethanol (C) Linker werden in die Lösungsmittelbehälter (4) eingefüllt. Das mit dem jeweiligen SAM funktionalisierte Goldsubstrat wird senkrecht an dem Probenhalter (5) befestigt. An der Gasflasche (1) wird am Ventil (2) der gewünschte Druck eingestellt und die Lösungen nacheinander durch die Düsen (6) auf die Probe aufgesprüht.

Im Folgenden wird der detaillierte Ablauf der Sprühmethode beschrieben:

1. Die Lösungsmittelbehälter werden mit den jeweiligen Lösungen befüllt (A) Metallsalz Lösung (B) Ethanol zum Spülen (C) organischen Linkerlösung.
2. Das mit dem jeweiligen SAM funktionalisierte Gold-Substrat wird senkrecht am Probenhalter befestigt.
3. Die Probe wird für 15 Sekunden mit der Metallsalz - Lösung aus Behälter (A) besprüht und für 30 Sekunden ruhen gelassen.

4. Die überschüssigen Metallionen werden durch 5 Sekunden besprühen der Probe mit der Ethanol Lösung aus Behälter (B) entfernt.
5. Das nun mit dem Metallkomplex funktionalisierte Substrat wird für 30 Sekunden mit der Linkerlösung besprüht und im Anschluss für 30 Sekunden ruhen gelassen.
6. Analog zu 4. wird die Probe für 5 Sekunden mit Ethanol gespült.
7. Schritte 3-6 werden wiederholt bis die gewünschte Anzahl an Zyklen erreicht wird.

Alle Proben werden anschließend mit IRRA-Spektroskopie und Röntgen Diffraktometrie charakterisiert. Im Folgenden werden die Konzentrationen und Funktionalisierungen der einzelnen, verwendeten Systeme beschrieben. Alle Synthesen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

[Cu(BA-SBDC)] – Als Metalllösung wird eine 1 mM $[\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ Ethanol Lösung verwendet, für die Linkerlösung eine 0.2 mM BA-SBDC Ethanol Lösung. Das Gold Substrat wird mit MHDA funktionalisiert.

[Zn(BA-BDC)] – Als Metalllösung wird eine 1.5 mM $[\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ Lösung in Ethanol verwendet, für die Linkerlösung eine 0.5 mM BA-BDC Ethanol Lösung. Das Gold Substrat wird mit MHDA funktionalisiert.

3.4.2 magMOF Synthese auf magnetischen Nanopartikeln

Für die Synthese der magMOF Partikel werden magnetische Fe_3O_4 Partikel verwendet, die vor der Synthese mit COOH Gruppen funktionalisiert werden müssen (siehe Kapitel 3.2.2). Die Synthese des magMOF erfolgt analog zu den oben beschriebenen SURMOFs in einem epitaktischen Schritt-für-Schritt Verfahren. Die ferrimagnetischen Partikel lassen sich leicht mit einem Permanentmagneten von der Lösung abtrennen. Der genaue Ablauf der Synthese wird in Abb. 32 dargestellt und im Folgenden detailliert beschrieben.

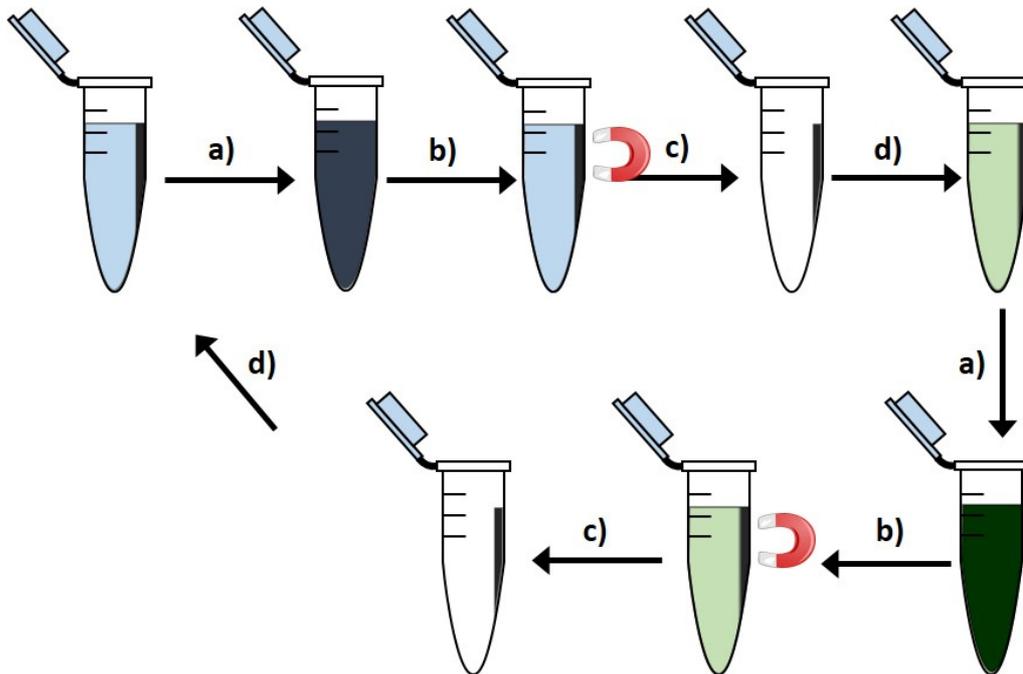


Abb. 32 Schematische Darstellung des genauen Ablaufs der magMOF – Synthese. (a) Aufschwemmen der Partikel in Lösung (b) Magnetische Separation der Partikel (c) Entnahme der Lösung (d) Zugabe der Lösung nächsten Lösung.

1. Es werden 2 mg der COOH terminierten Partikel in ein Eppendorf Tube gegeben und gründlich mit Ethanol gewaschen. Anschließend werden mit 2 ml einer 1.5 mM Metallkomplex-Lösung in Ethanol dazugegeben.
 - a) Die in der Metallkomplex-Lösung suspendierten Partikel werden für 5 min bei 50 °C in einem Thermomixer geschüttelt.
 - b) Die Magnetpartikel werden mit einem Permanentmagneten von der Metallkomplex-Lösung separiert.
 - c) Die Metallionen-Lösung wird entnommen, so dass nur die Partikel im Eppendorf Tube verbleiben.
 - d) Zum Entfernen der restlichen, nicht koordinierten Metallionen, werden die Partikel in 2 ml Ethanol suspendiert und für 10 s geschüttelt. Die Ethanol Lösung wird durch magnetische Separation von den Partikeln getrennt und durch 2 ml der Linkerlösung ersetzt.
2. Schritte a) bis d) werden mit der Linker-Lösung wiederholt um den ersten Wachstumszyklus abzuschließen. Die abwechselnde Zugabe der Metall- und Linker-Lösung werden solange wiederholt, bis die gewünschte Anzahl an Zyklen erreicht ist. Um ein Schritt-für-Schritt Wachstum zu ermöglichen, wird nach jedem Reaktionsschritt mit Ethanol gespült um die überschüssigen Ionen bzw. Linker zu entfernen.

3. Nach Abschluss der Synthese werden die Partikel zwei Mal gründlich mit Ethanol gespült und mit Röntgendiffraktometrie und ATR Infrarotspektroskopie charakterisiert.

Die genauen Konzentrationen, Temperaturen und Reaktionszeiten wurden für das jeweilige MOF-System optimiert.

[Cu(TPDC)(dabco)_{0.5}] – Metallkomplex-Lösung: 1.5 mM [Cu(CH₃COO)₂*H₂O]] in Ethanol. Linker-Lösung: 0.5 mM Terphenyldicarbonsäure (TPDC) + 0.5 mM 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (dabco) in Ethanol. Synthesetemperatur: 50 °C, Reaktionszeit pro Schritt für Metall und Linker jeweils 5 min.

[Cu(TPDC)] – Metallkomplex-Lösung: 1.5 mM [Cu(CH₃COO)₂*H₂O]] Lösung in Ethanol. Linker-Lösung: 0.5 mM Terphenyldicarbonsäure (TPDC) in Ethanol. Synthesetemperatur: 50 °C, Reaktionszeit pro Schritt für Metall und Linker jeweils 5 min.

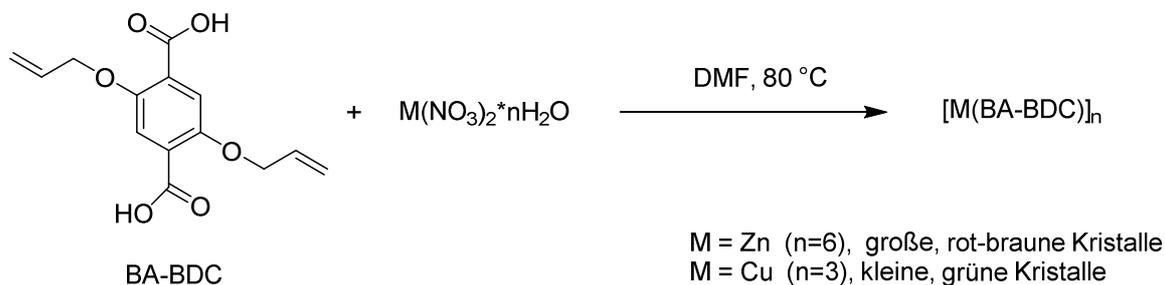
[Cu(BA-TPDC)(dabco)_{0.5}] – Metallkomplex-Lösung: 1.5 mM [Cu(CH₃COO)₂*H₂O]] in Ethanol. Linker-Lösung: 0.2 mM Bis(azidomethyl)-terphenyldicarbonsäure (DA-TPDC) + 0.5 mM 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (dabco) in Ethanol. Synthesetemperatur: 50 °C, Reaktionszeit pro Schritt für Metall und Linker jeweils 5 min.

[Cu(BA-TPDC)] – Metallkomplex-Lösung: 1.5 mM [Cu(CH₃COO)₂*H₂O]] in Ethanol. Linker-Lösung: 0.5 mM Bis(azidophenyl)-terphenyldicarbonsäure (BA-TPDC) in Ethanol. Synthesetemperatur: 50 °C, Reaktionszeit pro Schritt für Metall und Linker jeweils 5 min.

[Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] – Metallkomplex-Lösung: 1.5 mM [Zn(CH₃COO)₂*2H₂O]] in Ethanol. Linker-Lösung: 0.2 mM Bis(allyloxy)-bezoldicarbonsäure (BA-BDC) + 0.5 mM 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (dabco) in Ethanol. Synthesetemperatur: 50 °C, Reaktionszeit pro Schritt für Metall und Linker jeweils 5 min.

[Zn(BA-BDC)] – Metallkomplex-Lösung: 1.5 mM [Cu(CH₃COO)₂*H₂O]] in Ethanol. Linker-Lösung : 0.5 mM Bis(allyloxy)-benzoldicarbonsäure (BA-BDC) in Ethanol. Synthesetemperatur: 50 °C, Reaktionszeit pro Schritt für Metall und Linker jeweils 5 min.

3.4.3 Synthese von MOF-Einkristallen



Schema 4 Synthese der $[\text{M}(\text{BA-BDC})]$ Einkristalle (M = Zn, Cu).

Für die von mir im Arbeitskreis von Prof. Susumu Kitagawa am Institut for Integrated Cell-Material Science (iCeMs) an der Universität Kyoto, Japan, durchgeführten Arbeiten wurden MOF-Einkristalle synthetisiert. Einkristalle bieten den Vorteil, dass die Untersuchungen durch Einkristallröntgendiffraktometrie eine exakte Strukturaufklärung liefert. Die Synthese des $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ ist bereits bekannt und wurde aus der Literatur übernommen.¹¹⁹

$[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ – Es wurden $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (49.8 mg, 0.168 mmol, 1 eq), dabco (9.4 mg, 0.084 mmol, 0.5 eq) und BA-BDC (46,7 mg, 0.168 mmol, 1 eq) vollständig in 3 ml DMF gelöst und in einem verschlossenen Glasröhrchen für 48 h auf 85 °C erhitzt. Anschließend wurde das DMF abdekantiert und die Kristalle mit frischen DMF gewaschen. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Kristalle in DMF im Dunkeln aufbewahrt.

$[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ – Es wurden $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (49.8 mg, 0.168 mmol, 1 eq) und BA-BDC (46,7 mg, 0.168 mmol, 1 eq) vollständig in 3 ml DMF gelöst und in einem verschlossenen Glasröhrchen für 48 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde das DMF abdekantiert und die Kristalle mit frischem DMF gewaschen. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Kristalle in DMF im Dunkeln aufbewahrt.

$[\text{Cu}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ – Es wurden $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (40.5 mg, 0.168 mmol, 1 eq), dabco (9.4 mg, 0.084 mmol, 0.5 eq) und BA-BDC (46,7 mg, 0.168 mmol, 1 eq) vollständig in 3 ml DMF gelöst und in einem verschlossenen Glasröhrchen für 48 h auf 85 °C erhitzt. Anschließend wurde das DMF abdekantiert und die Kristalle mit DMF gewaschen. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Kristalle in DMF im Dunkeln aufbewahrt.

$[\text{Cu}(\text{BA-BDC})]$ – Es wurden $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (40.5 mg, 0.168 mmol, 1 eq) und BA-BDC (46,7 mg, 0.168 mmol, 1 eq) vollständig in 3 ml DMF gelöst und in einem verschlossenen Glasröhrchen für 48 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde das DMF

abdekantiert und die Kristalle mit DMF gewaschen. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Kristalle in DMF im Dunkeln aufbewahrt.

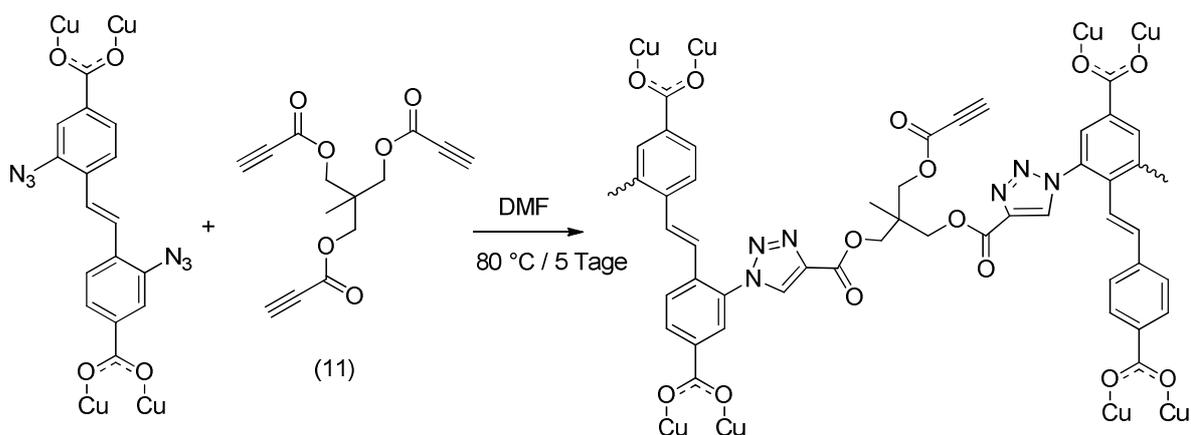
Alle Kristalle wurden nach der Synthese mit Röntgenpulverdiffraktometrie und Infrarot-Spektroskopie untersucht. Für [Zn(BA-BDC)] und [Cu(BA-BDC)] konnten Kristalle für die Röntgeneinkristalldiffraktometrie erhalten werden.

3.5 Postsynthetische Modifikation der SURMOF Substrate

3.5.1 SURGEL Umwandlung von [Cu(DA-SBDC)] und [Cu(DA-SBDC)(dabco)_{0.5}]

Die Umwandlung der Azid-funktionalisierten SURMOFs zu den SURGELs erfolgt in zwei Schritten, die im Folgenden erläutert werden.

Im ersten Schritt werden die Azid-funktionalisierten SURMOFs mit Trimethylethantripropiolat, einem multifunktionellen Alkin Sekundärlinder umgesetzt. In einer 1,3 dipolaren Cycloaddition (Alkin-Azid Klick Reaktion) wird je eine Azid- und die Alkin-Gruppe zu einem Triazolring umgesetzt. Da der Sekundärlinder (**11**) drei Alkingruppen aufweist, kann er mehrere Primärlinker verbinden, was zu einer Quervernetzung des SURMOFs führt. In einem zweiten Schritt werden die Metallionen mit Ethyldiamintetraessigsäure (EDTA) aus dem Gerüst herausgelöst. Durch die zusätzliche Verstrebung der organischen Linkermoleküle, bleibt die Struktur des Gerüsts auch ohne die sonst für die Struktur maßgeblich verantwortlichen Metallionen, stabil. Die Synthese wurde analog der in der Literatur beschriebenen Synthesevorschrift durchgeführt.⁸³



Schema 5 Reaktionsschema der 1,3 dipolaren Cycloaddition (Alkin-Azid Klick Reaktion) des [Cu(DA-SBDC)] mit dem trifunktionalen Alkin Sekundärlinkers (**11**) zu dem quervernetzten SURMOF Gerüst.

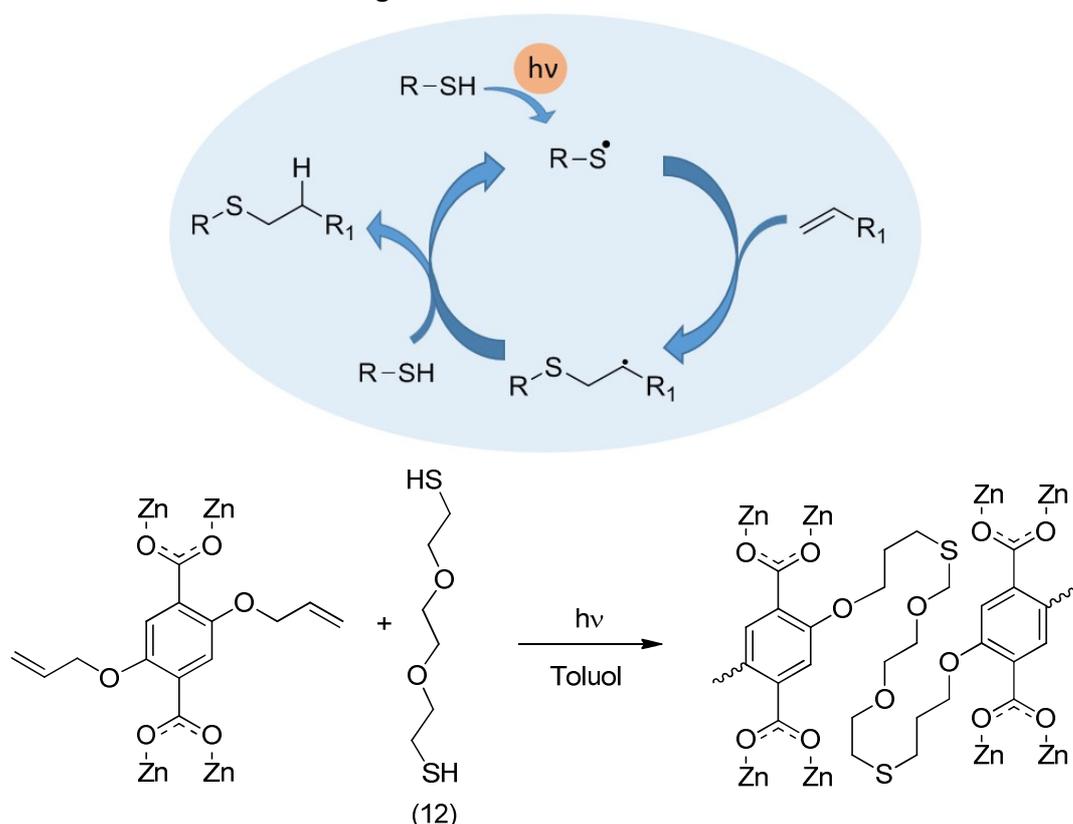
Quervernetzungsreaktion – Die frisch synthetisierten [Cu(DA-SBDC)] bzw. [Cu(DA-SBDC)(dabco)_{0.5}] Präparate wurden in eine 1 mg/ml Toluollösung des Trimethylethantripropiolats (**11**) eingelegt. Die Proben wurden für 7 Tage im Dunkeln in Stickstoffatmosphäre auf 80 °C erhitzt. Anschließend wurden die Proben gründlich mit Ethanol gespült und in einen Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

Umwandlung des quervernetzten SURMOFs zu SURGEL – Die quervernetzten SURMOF Proben wurden in 10 ml einer gesättigten EDTA Lösung - Ethanol/Wasser (1/1)

gegeben und für 30 min bei Raumtemperatur belassen. Anschließend wurden die Proben mit Ethanol und Wasser gespült und in einem Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

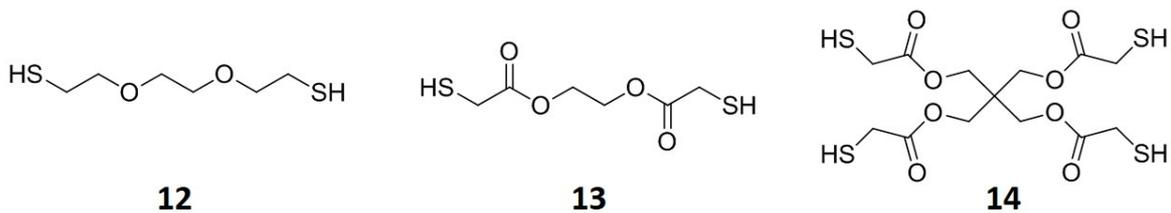
3.5.2 SURGEL Umwandlung von $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ und $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$

Das Vernetzen der Alken-funktionalisierten $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ bzw. $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ MOFs erfolgt über eine Thiol-en Klick-Reaktion. Als Sekundärlinker werden mehrfach funktionalisierte Thiole verwendet. Die Thiol-en Reaktion ist eine radikalische Kettenübertragungsreaktion, durch Bestrahlung des Thiols mit UV Licht, wird ein Thiol-Radikal gebildet. Wie in Schema 6 zu sehen ist, wird es mit dem Alken in einer radikalischen Addition zu einem Thioester umgesetzt.



Schema 6 (Oben) Reaktionsschema der Thiol-en Klick-Reaktion. Das durch Bestrahlung mit UV Licht erzeugte Thiol Radikal wird in einer radikalischen Additionsreaktion mit dem Alken zu einem Thioether umgesetzt. (Unten) Reaktionsschema des Alken-funktionalisierten $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ MOFs mit einem multifunktionellen Thiol Molekül. In dem hier dargestellten Schema wird die Reaktion mit dem bifunktionalen Sekundärlinker 2,2'-(Ethylenedioxy)diethanethiol (DET) (**12**) dargestellt.

Die Gel-Umwandlung läuft analog zu den in Kapitel 3.5.1 beschriebenen Systemen in zwei Schritten. Im ersten Schritt werden die SURMOFs wie in Schema 6 (unten) dargestellt über eine Thiol-en Klick Reaktion vernetzt. Im zweiten Schritt werden die Metallionen mit einer EDTA Lösung aus dem Gitter herausgelöst. Für die Vernetzung der Alken-funktionalisierten [Zn(BA-BDC)] und [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] MOFs wurden drei verschiedene Thiol-funktionalisierte Sekundärlinker verwendet. Die Struktur der verwendeten Thiole wird in Schema 7 dargestellt. Verwendet wurden das difunktionalisierte 2,2'-(Ethylendioxy)diethanethiol (EDT) (**12**), (Ethylen-bis(2-mercaptoacetat) (EMA) (**13**) und das tetrathiol-funktionalisierte Pentaerythritol Tetramercaptoacetate (PETMA) (**14**).



Schema 7 Schematische Darstellung der verwendeten multifunktionellen Thiol-Sekundärlinker (**12**) 2,2'-(Ethylendioxy)diethanethiol (EDT) (**13**) (Ethylen-bis(2-mercaptoacetat) (EMA) (**14**) Pentaerythritol Tetramercaptoacetate (PETMA).

Quervernetzungsreaktion - Die frisch synthetisierten [Zn(BA-BDC)] bzw. [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] Präparate wurden in eine Toluollösung mit 2 µl/ml des jeweiligen Sekundärlinkers (**12**, **13** bzw. **14**) eingelegt. Die Proben wurden 24 h in der Toluol/Sekundärlinker Lösung belassen und mit UV Licht mit einer Wellenlänge von 365 nm bestrahlt. Anschließend wurden die Proben gründlich mit Ethanol gespült und in einen Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

Umwandlung des quervernetzten SURMOFs zu SURGEL – Die quervernetzten SURMOF Substrate wurden in 10 ml einer gesättigten EDTA Lösung (Ethanol/Wasser (1/1)) gegeben und für 30 min bei Raumtemperatur unter leichtem Rühren belassen. Anschließend wurden die Proben gründlich mit Ethanol und Wasser gespült und in einem Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

3.6 Postsynthetische Modifikation der magMOF Partikel

3.6.1 magGEL Nanopartikel

Die Herstellung der magGEL Nanopartikel erfolgt in drei Schritten. Im ersten Schritt wird der [Zn(BA-TPDC)] magMOF auf die Partikel aufgewachsen. Die Synthesevorschrift für das Schritt-für-Schritt Wachstum der magMOF Schicht wurde in Kapitel 3.4.2 im Detail beschrieben. Dieser Vorschrift folgend wurden 2 mg der COOH funktionalisierten Nanopartikel abwechselnd in eine 2 mM [Cu(OAc)₂*2H₂O] und eine 0.25 mM (BA-TPDC) Ethanollösung getaucht. Zwischen jedem Schritt wurden die Partikel mit Ethanol gespült.

Im zweiten Schritt wurden die frisch synthetisierten [Cu(BA-TPDC)] magMOF-Partikel in eine Lösung aus 1 mg/ml Trimethylolethane tripropiolate (**11**) in Toluol gegeben und für 7 Tage bei 80 °C im Dunkeln gerührt. Anschließend werden die vernetzten Partikel gründlich drei Mal mit Ethanol gewaschen.

Für den letzten Schritt der magGEL Synthese werden die vernetzten magMOF Partikel in 10 mL einer gesättigten EDTA-Lösung in Ethanol/Wasser (1/1) getaucht und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden die fertigen magGEL Partikel je zwei Mal gründlich mit Wasser und Ethanol gewaschen und bis zur weiteren Verwendung in Ethanol aufbewahrt.

3.6.2 Synthese der multilagigen Farbstoff-funktionalisierten Mikropartikel

Für die Synthese der Farbstoff-funktionalisierten Multilagenpartikel wurden SiO₂-MAG-COOH Partikel der Firma Microparticles GmbH verwendet. Die monodispersen Partikel besitzen einen Durchmesser von etwa 5 µm und sind mit COOH Gruppen funktionalisiert. Der sukzessive Aufbau der Partikel wird in Abb. 33 gezeigt, die einzelnen Schritte werden im Folgenden genau erläutert.

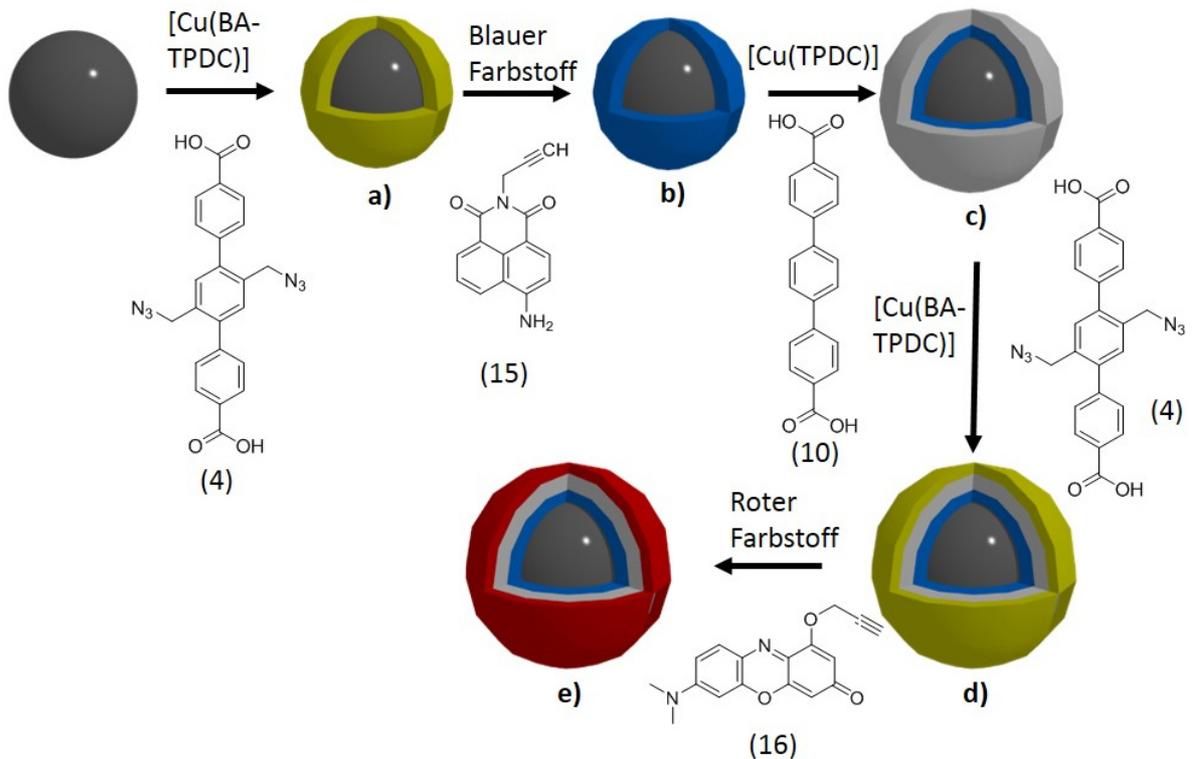


Abb. 33 Schematische Darstellung der Synthese der blau/roten Multischalen magMOF Partikel. (a) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] (b) Klick-Reaktion des blauen Farbstoffs (**15**) (c) 16 Zyklen [Cu(TPDC)] als Abstandhalter zwischen der blauen und der roten Schicht (d) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] (e) Klick-Reaktion des roten Farbstoffs (**16**).

(a) 10 Zyklen (Cu(BA-TPDC)) – Die COOH funktionalisierten SiO₂-MAG Partikel werden nach der in Kapitel 3.4.2 im Detail erläuterten Synthesevorschrift mit 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] beschichtet. Dafür wird als Linker-Lösung eine 0.25 mM Bis(azidomethyl)-terpehyldicarbonsäure (BA-TPDC) (**4**) Lösung verwendet und je 10 Mal abwechselnd mit der 2 mM [Cu(OAc)₂*H₂O] Lösung zu den Partikeln gegeben. Zwischen jedem Schritt werden die Partikel mit Ethanol gewaschen.

(b) Klick-Reaktion des blauen Farbstoffmoleküls – Die SiO₂-MAG@Cu(BA-TPDC)](**10**) Partikel werden 3 Mal mit Methanol gewaschen und für die kupferkatalysierte Alkin-Azid Klick-Reaktion mit dem Alkin-funktionalisierten Farbstoffmolekül **15**, unter Argonatmosphäre in ein verschlossenes Schlenkrohr gegeben. Es werden 5 ml einer Lösung aus 50 µg des blauen Farbstoffs 450-Amino Naphta-(imidalkin) (**15**) und 50 µg des Cu(I) Katalysators (Tetrakis(Acetonitril)Kupfer(I) Hexafluorophosphat) in trockenem Methanol hinzugegeben und für 24 h bei 35 °C gerührt. Nach der Reaktion werden die

Partikel magnetisch von der Lösung abgetrennt und drei Mal mit je 2 mL Ethanol gewaschen.

- (c) 16 Zyklen [Cu(TPDC)]** – Als Abstandhalter zwischen den beiden Farbstoff-funktionalisierten Schichten, werden die mit dem blauen Farbstoff beladenen MAG@Cu(BA-TPDC)(10) Partikel anschließend mit 16 Zyklen [Cu(TPDC)] beschichtet. Dafür wird abwechselnd je 16 Mal eine eine 2 mM $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CO}_2^-)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ und eine 0.25 mM (TPDC) (**10**) Lösung zu den Partikeln gegeben. Zwischen den einzelnen Schritten wird jeweils mit 2 mL Ethanol gespült.
- (d) 10 Zyklen (Cu(BA-TPDC))** – Die äußerste Schicht wird wiederum mit dem Azid-funktionalisierten BA-TPDC durchgeführt, um diese mit dem roten Farbstoff beladen zu können. Dafür wird je 10 Mal abwechseln eine 0.25 mM Bis(azidomethyl)-terpehyldicarbonsäure (BA-TPDC) (**4**) und eine 2 mM $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CO}_2^-)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ Lösung zu den Partikeln gegeben und zwischen jeden Schritt mit Ethanol gespült
- (e) Klick-Reaktion des roten Farbstoffmoleküls** – Im letzten Schritt der Synthese der Multischalenpartikel wird die äußerste, Azid-funktionalisierte magMOF Schicht in einer kupferkatalysierten Alkin-Azid Klick-Reaktion mit einem roten, fluoreszenten Farbstoff beladen. Dafür werden die Partikel in 5 mL einer Lösung von 50 μg des roten Farbstoffs (550-Red Oxazine Alkin) (**16**) und 50 μg des Cu(I) Katalysators (Tetrakis(Acetonitril)Kupfer(I) Hexafluorophosphat) in trockenem Methanol gegeben. Die Reaktionslösung wird unter Stickstoffatmosphäre bei 35 °C für 24 h gerührt.

3.6.3 Synthese der Farbstoff beladenen magGEL Kapseln

Für die Synthese der magGEL Kapseln wurden SiO_2 -MAG-COOH Partikel der Firma Microparticles GmbH verwendet. Die monodispersen Partikel besitzen einen Durchmesser von etwa 5 μm und sind mit COOH Gruppen funktionalisiert. Abb. 34 zeigt den sukzessiven Aufbau der magGEL Kapseln, im Folgenden werden die einzelnen Syntheseschritte genau erläutert.

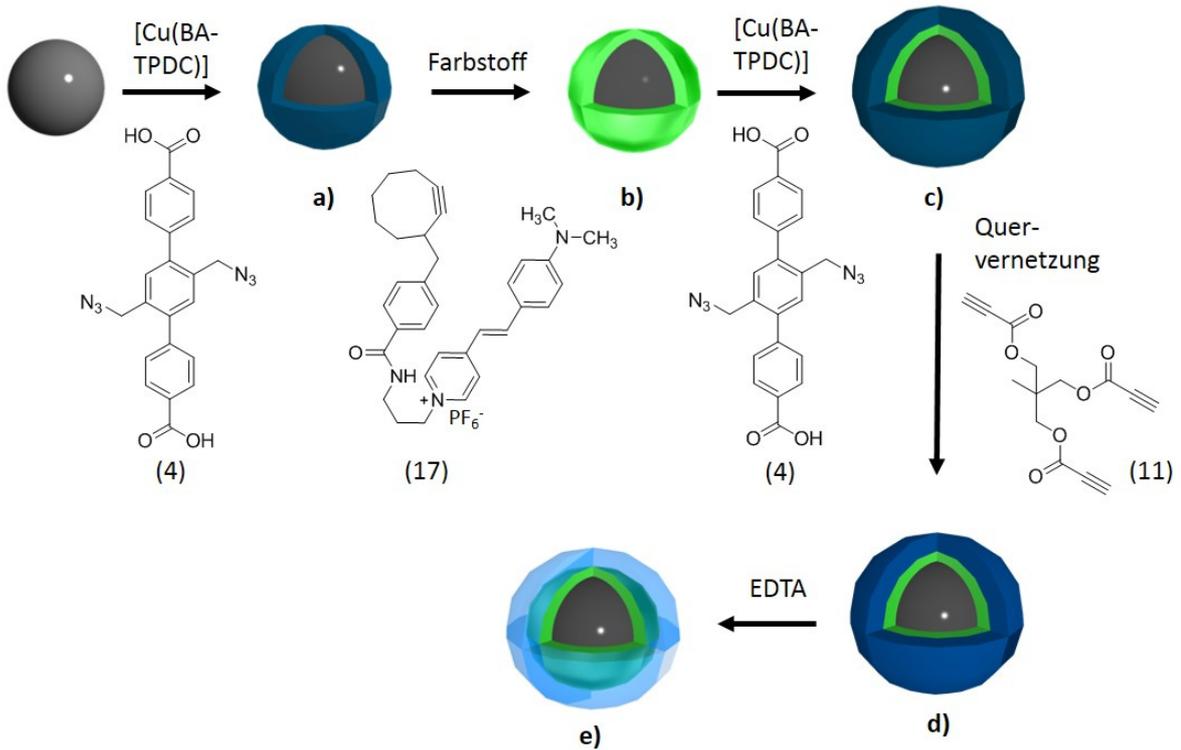


Abb. 34 Schematische Darstellung der Synthese der magGEL Kapseln auf SiO₂-MAG-COOH Mikropartikeln. (a) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] (b) Beladung mit dem grünen fluoreszenten Farbstoffmolekül Alkyne Mega Stokes dye 608 (**17**) (c) 20 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] (d) Quervernetzung der äußeren Schale mit dem Trialkin-Sekundärlinker (e) Entfernung der Kupferionen mittels EDTA-Lösung.

- a) 10 Zyklen (Cu(BA-TPDC))** – Die COOH funktionalisierten SiO₂-MAG-Partikel werden nach der in Kapitel 3.4.2 im Detail erläuterten Synthesevorschrift mit 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] beschichtet, dafür wird als Linker-Lösung eine 0.25 mM Bis(azidomethyl)-terpehyldicarbonsäure (BA-TPDC) (**4**) Lösung verwendet und je 10 Mal abwechselnd mit der 2 mM [Cu(CH₃CO₂)₂·H₂O] Lösung zu den Partikeln gegeben. Zwischen jedem Schritt werden die Partikel mit Ethanol gewaschen.
- b) Klick-Reaktion des grünen Farbstoffs** – Der Farbstoff wird durch eine durch Ringspannung begünstigen 1,3 dipolaren Cycloaddition (SPAAC aus dem Englischen, strainpromoted metal-free click reaction, azid-alkyne cycloaddition) in den SURMOF eingebracht. Durch die Ringspannung des Cyclooctin Rings (siehe Abb. 34 (a)) wird das Alkin so aktiviert, dass die Klick-Reaktion ohne den Cu(I) Katalysator ablaufen kann. Für die Reaktion werden die Partikel zweimal mit je 2 ml Toluol gewaschen und zu einer Lösung aus 0.1 mg des Alkyne Mega Stokes dye 608 (**17**) (Aldrich) in 10 ml Toluol gegeben. Die Reaktionsmischung

wird im Dunkeln für 2 Tage auf 50 °C erhitzt. Anschließend werden die Partikel 3 Mal mit je 2 ml Ethanol gewaschen.

- c) 20 Zyklen [Cu(BA-TPDC)]** – Für die Synthese der zweiten magMOF Schicht werden die gründlich gewaschenen, mit dem grünen Farbstoff beladenen Partikel, mit weiteren 20 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] beschichtet. Dafür wird die in 3.4.2 beschriebene Synthese mit einer 2 mM $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CO}_2^-)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ und einer 0.25 mM BA-TPDC (**4**) Lösung in Ethanol durchgeführt.
- d) Quervernetzungsreaktion** – Die frisch synthetisierten Partikel aus (c) werden zweimal mit Toluol gewaschen und anschließend mit einer Lösung von 10 mg des Trimethyloethan-tripropiolats (**11**) in 10 ml Toluol überschichtet. Die Partikel werden mit dem Magnetrührer in Emulsion gebracht und für 7 Tage auf 80 °C erhitzt. Um die Azid-Gruppen zu schützen wird die Reaktion im Dunkeln unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Nach Beenden der Reaktion werden die Partikel 3 Mal mit Ethanol gewaschen.
- e) Umwandlung magMOF zu magGEL** – Die Quervernetzen, mit dem grünen Farbstoff beladen Partikel aus (d) werden mit 10 ml einer gesättigten EDTA-Lösung in einer Ethanol/Wasser Mischung im Verhältnis 1/1 überschichtet und für 30 min gerührt. Anschließend werden die magGEL Kapseln gründlich mit Ethanol und Wasser gewaschen.

3.7 Übertragung der SURGEL Membranen

Um das SURGEL als Zellwachstums-Substrat verwenden zu können, ist es notwendig die SURGEL Schicht von dem für die Synthese verwendeten Gold-Wafer abzutrennen. Da die Zellen für die spätere Analyse mit einem fluoreszenten Farbstoff angefärbt und unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet werden, ist es von Vorteil, ein transparentes Substrat zu verwenden. Mit einem von der Gruppe um Prof. Götzhäuser entwickelten Verfahren^{122,123} kann die SURGEL Membran von dem Gold Substrat gelöst und auf das Glas übertragen werden. Die einzelnen Schritte der Synthese werden in Abb. 35 dargestellt und im Folgenden beschrieben.

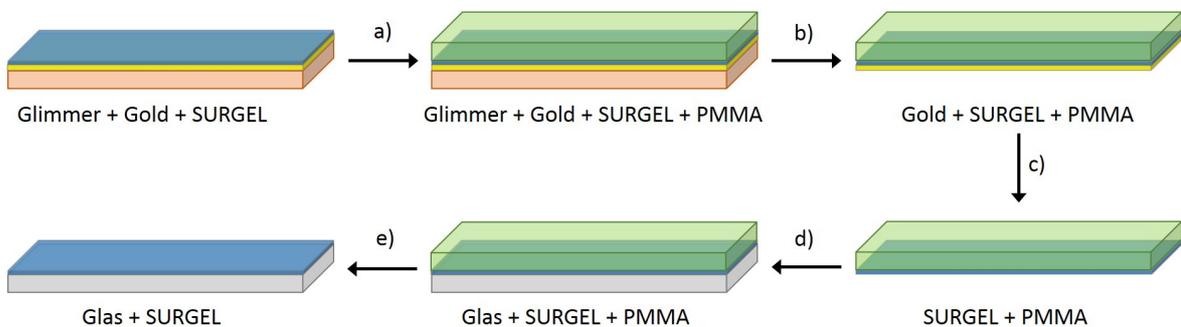


Abb. 35 Schematische Darstellung der Übertragung der SURGEL-Membran von dem Gold/Glimmer Substrat auf Glas.

Für die Übertragung werden die auf den Glimmer/Gold Substraten synthetisierten SURGELs verwendet. Die genaue Synthese der SURMOFs und deren Umwandlung zu SURGEL wird detailliert in Kapitel 3.5 beschrieben.

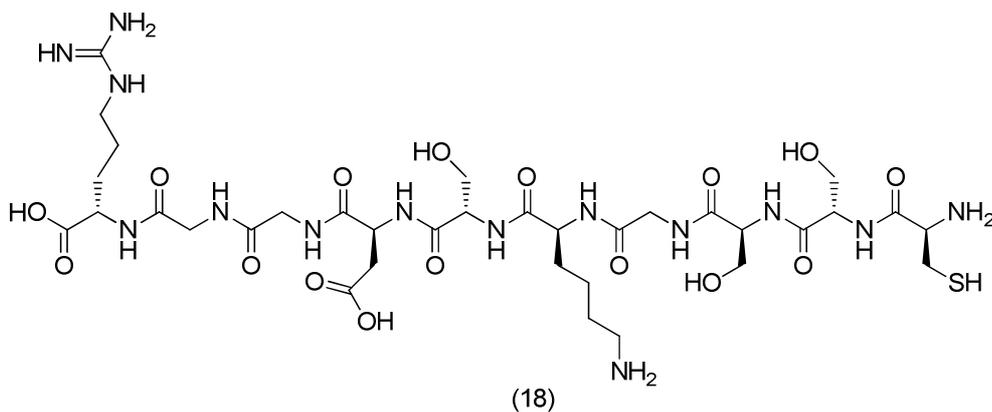
- (a) Um die freistehende Membran zu erhalten wird im ersten Schritt mit dem Spincoater eine Polymethylmethacrylat (PMMA) Acetonlösung dünn und gleichmäßig auf das SURGEL aufgetragen. Nach dem Aushärten des PMMA, wirkt diese Schicht als unterstützende Membran, um das filigrane SURGEL während des Übertragens zu stabilisieren.
- (b) Um das Glimmer von der Goldschicht zu trennen, wird das Substrat zunächst für je fünf Minuten auf einer wässrigen I₂/KI-Lösung und anschließend KI-Lösung aufschwimmen gelassen um das Gold anzulösen. Anschließend kann das Glimmer Substrat durch seitliches Eintauchen in Wasser vom Gold getrennt werden.¹²⁴
- (c) Die restliche Goldschicht wird in einer wässrigen I₂/KI aufgelöst und die SURGEL PMMA Membran gründlich dreimal für je 10 min in Wasser gewaschen.

- (d) Die Membran wird anschließend mit einem 2x2 cm Deckglas aus der Lösung aufgenommen und für mindestens 2 h an Luft getrocknet.
- (e) Im letzten Schritt wird die PMMA Schicht aufgelöst, dafür wird das Glas-SURGEL Substrat 3 Mal für 20 min in Aceton gelegt, anschließend gründlich mit Aceton gespült und in einem trockenem Stickstoffstrom getrocknet.

3.8 Funktionalisierung und Strukturierung der SURGELS

3.8.1 Funktionalisierung mit RGD

Um die Eigenschaften des SURGELS als Zellwachstumssubstrat zu verbessern, wird die Oberfläche des SURGELS mit der Aminosäuresequenz Arg-Gly-Asp (RGD) funktionalisiert. Die Arg-Gly-Asp (RGD) Einheit dient als Erkennungssequenz für die in der Zellwand befindlichen Integrin-Proteine und verbessert somit die Oberflächenadhäsion der Zellen. Als Ankergruppen werden die endständigen, im SURGEL noch vorhandenen Alkin Gruppen des Sekundärlinkers (**11**) verwendet. Das RGD (**18**) wird *via* Thiol-en Klick-Reaktion an das SURGEL aufgebracht. Dafür wird eine Aminosäuresequenz verwendet, die als Endgruppe die RGD Einheit (Arg-Gly-Asp) aufweist, die durch vier verbrückende, hydrophile Aminosäuren mit einem Thiol-funktionalisiertem Cystein verbunden sind (siehe Schema 8).



Schema 8 Schematische Darstellung der hydrophilen Aminosäuresequenz Arg-Gly-Asp-Ser-Lys-Gly-Ser-Ser-Cys (**18**). Die Arg-Gly-Asp (RGD) Endgruppe dient als Erkennungssequenz für die in der Zellwand befindlichen Integrin – Proteine und verbessert somit die Oberflächenadhäsion der Zellen. Das Cystein weist eine Thiol-Gruppe auf, mit dem die Aminosäuresequenz *via* Thiol-en Klick-Reaktion mit dem SURGEL verbunden werden kann.

Da die Thiol-en Reaktion eine UV-Licht initiierte Reaktion ist, kann die Oberfläche durch Verwenden einer Photomaske gezielt nur an bestimmten, dem UV Licht zugänglichen Stellen funktionalisiert werden. Die genaue Durchführung der verschiedenen Oberflächenfunktionalisierungen wird im Folgenden beschrieben.

Um die Oberfläche flächig zu funktionalisieren, wird das auf das Deckgläschen übertragene SURGEL vollständig mit einer wässrigen RGD-Lösung (500 µg/ml) bedeckt. Das Substrat wird für 30 min mit UV-Licht mit einer Wellenlänge von 365 nm beschienen. Nach

Beenden der Reaktion wird das Substrat gründlich mit Wasser gespült und in einem Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

Die Strukturierung der Oberfläche mit RGD wurde mithilfe von Wenqian Feng aus der Gruppe von Dr. Pavel Levkin am Institut für Toxikologie und Genetik (ITG) durchgeführt. Es wurden Quarzglasmasken verwendet, die nur an bestimmten Bereichen UV-Licht durchlässig sind. Es wurden 2 Tropfen der wässrigen RGD-Lösung (500 µg/ml) auf die SURGEL-Membran getropft und anschließend mit der Photomaske bedeckt. Dabei ist zu beachten, dass die Photomaske vollständig auf der Probe aufliegt, um ein seitliches Eindringen des UV-Lichtes zu verhindern. Die Probe wird unter eine 255 nm UV-Lampe platziert und für 3 min bestrahlt. Anschließend wird die Probe gründlich mit Wasser gespült und in einem trockenen Stickstoffstrom getrocknet.

3.8.2 Funktionalisierung mit Oligoethylenglycol (OEG) und 1-Oktadekanthiol (C18)

Oligoethylenglykole (OEG) sind lineare, kurzkettenige Einheiten von Ethandiol (-CH₂-CH₂-O-)_n, langkettigere Einheiten werden Polyethylenglykol (PEG) genannt und wegen ihrer nicht-toxischen und hydrophilen Eigenschaften oft in der medizinischen Anwendungen eingesetzt. Whideside *et. al.* verwendeten erstmals Thiol-funktionalisierte OEGs zur Herstellung von SAMs auf Gold Substraten und fanden heraus, dass die hydrophilen OEG funktionalisierten Oberflächen proteinabweisenden Eigenschaften aufweisen.¹²⁵ Um die SURGEL-Membranen nun mit unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften auszustatten, wird die Oberfläche mit (11-Mercaptoundecyl)hexa(ethylenglykol) (OEG-6) (**19**) und 1-Oktadekanthiol (C18) funktionalisiert.

Die mit einem endständigen Thiol funktionalisierten OEG bzw. C18 Moleküle werden über eine Thiol-en Klick Reaktion mit den Alkin-Gruppen der SURGELS verknüpft. Die Reaktionen wurden wie folgt durchgeführt.

OEG-6 - Die auf Deckgläschen übertragenen (siehe Kapitel 3.7) SURGEL Membranen, werden mit 3 mL einer Lösung aus (11-Mercaptoundecyl)hexa(ethylenglykol) (OEG-6) (**19**) (200 µg/ml) in Wasser überschichtet und für 30 min unter einer UV Lampe mit einer Wellenlänge von 365 nm platziert. Nach Beenden der Reaktion wird die Probe gründlich mit Wasser gespült und unter einem Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

C18 - Die auf Deckgläschen übertragenen (siehe Kapitel 3.7) SURGEL Membranen, werden mit 3 mL einer 1 mM Lösung aus 1-Oktadekanthiol (C18) in Ethanol überschichtet und für 30 min unter einer UV Lampe mit einer Wellenlänge von 365 nm platziert. Nach

Beenden der Reaktion wird die Probe gründlich mit Wasser gespült und unter einem Strom aus trockenem Stickstoff getrocknet.

3.9 Durchführung der Zellexperimente

Die Zellexperimente wurden in Kooperation mit verschiedenen Arbeitsgruppen am IFG und an der Pharmazeutischen Fakultät der National Universität Singapur durchgeführt. Dabei wurde die Synthese, chemische Funktionalisierung und Vorbereitung der SURGEL Substrate von mir durchgeführt, die Zellkultivierung und anschließende Auswertung erfolgte dann mit anderen Arbeitsgruppen, die im Folgenden jeweils benannt sind.

3.9.1 CAL-72 Zellen

Die Eignung von SURGEL als Zellwachstumssubstrat für die Osteoblasten-ähnliche Zelllinie CAL-72, wurde in Kooperation mit Prof. Cornelia Lee-Thedieck vom Institut für Funktionelle Grenzflächen durchgeführt.

Für die Verwendung der SURGEL-Membranen als Zellkultivierungssubstrate werden diese zunächst, wie in Kapitel 3.8 beschrieben, mit RGD funktionalisiert.

Die CAL-72 Zellen wurden vom Leibniz Institut DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Braunschweig, Deutschland) erhalten und in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) aufbewahrt.

Für die Zellkultur Experimente wurden die 10 x 10 mm SURGEL Membranen mit der in Kapitel 3.7 beschriebenen Methode auf 18 x 18 mm Deckgläser übertragen und in einer Lösung aus 70 % Ethanol für 30 Minuten sterilisiert. Anschließend werden die Membranen mit einem Phosphatpuffer Saline (PBS) und DMEM high glucose gewaschen. Die CAL-72 Zellen werden auf die funktionalisierten SURGEL Substrate mit einer Dichte von 5000 Zellen pro cm² ausgesät und mit DMEM mit 2 % FBS (Fetal Bovine Serum) und 1 % IST (Insulin, Transferrin und Selenium) bedeckt.

Nach einer Inkubationszeit von vier Stunden werden nicht adhärierte Zellen durch Waschen mit PBS entfernt. Die Proben werden mit 4 % PFA in PBS für 15 Minuten bei Raumtemperatur fixiert, mit 0.1 % (v/v) Triton X-100 (Roth, Karlsruhe) in PBS für 5 Minuten permeabilisiert und anschließend mit einer 1 % (w/v) BSA in PBS Lösung für 30 min gegen unspezifische Antikörperbindung blockiert.

Für das fluoreszente Anfärben werden die Proben in Alexa Fluor® 488 Phalloidin (Thermo Fisher Scientific, Karlsruhe, Deutschland) verdünnt 1:40 und DAPI (Serva, Heidelberg, Deutschland) verdünnt 1:1000 in PBS für 30 Minuten inkubiert.

Die Fluoreszenz-Aufnahmen wurden an einem Axio Observer.Z1 (Carl Zeiss, Inc., Jena, Deutschland) mit der Zeiss ZEN Blue Imaging Software (Carl Zeiss Inc.) aufgenommen

und hinsichtlich der Zellzahlen (= Anzahl DAPI gefärbte Kerne) pro Mikroskopfeld untersucht.

3.9.2 Mesenchymale Stammzellen (MSC)

Eine weitere Studie wurde in Kooperation mit Prof. Ee von der Pharmazeutischen Fakultät der National University of Singapore durchgeführt. Dafür wurden mesenchymale Stammzellen und Human dermal fibroblasts verwendet. Es wurde sowohl die Eignung der SURGELs als Wachsstumssubstrat, als auch das Differenzierungsverhalten der MSC Zellen auf dem SURGEL getestet.

Um die Zellviabilität zu testen, werden die Lebendzellzahlen im Vergleich zu dem umgebenden Deckglas aufgezeichnet. Im ersten Schritt wurden SURGEL-Membranen mit der in Kapitel 3.7 beschriebenen Methode auf runde, 10 mm im Durchmesser große Deckgläser übertragen. Direkt vor der Zellübertragung werden diese in eine 24-Loch Platte gelegt und für 30 min unter UV Licht sterilisiert. Anschließend werden 15000 mesenchymale Stammzellen in jedes Loch gegeben und mit 500 µl Medium bedeckt. Die Inkubationszeit der Zellen beträgt drei Tage.

An Tag drei nach dem Aussähen wird das Medium herausgenommen und die Anfärbe Lösung hinzugegeben (Lebend/tot Kit und Hoechst 33342). Die Inkubationszeit der Anfärbe Mittel beträgt 20 Minuten. Anschließend werden die Zellzahlen mit dem Konfokalmikroskop aufgenommen, die Bilder und Zellzahlen werden mit ImageJ bearbeitet.

4 ERGEBNISSE

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Anwendung der SURMOFs auf die Bereiche der Biologie und Biotechnologie zu erweitern. Die neu entwickelte Materialklasse der SURGELs, die einerseits die Eigenschaften der SURMOFs (präzise, molekulare Ordnung, hohe Variabilität in der Struktur und der Zusammensetzung) und andererseits die der Polymergele (Stabilität in physiologischen Umgebungen und Biokompatibilität) besitzen, ist hinsichtlich dessen ein sehr vielversprechendes Material.^{83,84} Erste Studien zur Biokompatibilität und zur Einlagerung von kleinen Molekülen waren sehr vielversprechend und zeigen das hohe Potential des SURGELs in der biologischen Anwendung. Wie in Kapitel 1.4 diskutiert ist nicht nur der molekulare Aufbau von Biomaterialien von Bedeutung für eine ideale Zellanbindung, sondern auch die hierarchische Strukturierung des Materials und eine strukturierte Bio-Funktionalisierung der Oberfläche. In dieser Arbeit wurde an der Optimierung all dieser Eigenschaften gearbeitet. Die Arbeit gliedert sich entsprechend der verschiedenen Längenskalen. In Kapitel 4.1 wird die Vielfalt der strukturellen Möglichkeiten im Nano- und Mikrometer Bereich diskutiert. Die Verwendung verschiedener Substrate wie Nanopartikel oder Gold beschichteten Mica Wafern erlaubt neben den wohlbekannten Oberflächenfilmen die Herstellung von freistehenden Nanomembranen oder hierarchisch strukturierten SURGEL Kapseln. In Kapitel 4.2 wird auf die laterale Oberflächenfunktionalisierung und die Wechselwirkungen des Materials mit verschiedenen Zelllinien eingegangen. Schließlich wird im letzten Kapitel 4.3 die Variabilität und Flexibilität des Materials auf der molekularen Längenskala vorgestellt. Die Variabilität der Linker und somit der Porengröße und Eigenschaft, sowie verschiedene Systeme der Quervernetzung innerhalb der Poren werden diskutiert.

Abb. 36 gibt einen Überblick über das Zusammenwirken der verschiedenen Strukturierungen bei der Zell-Material Wechselwirkung wie sie für diese Arbeit relevant sind.

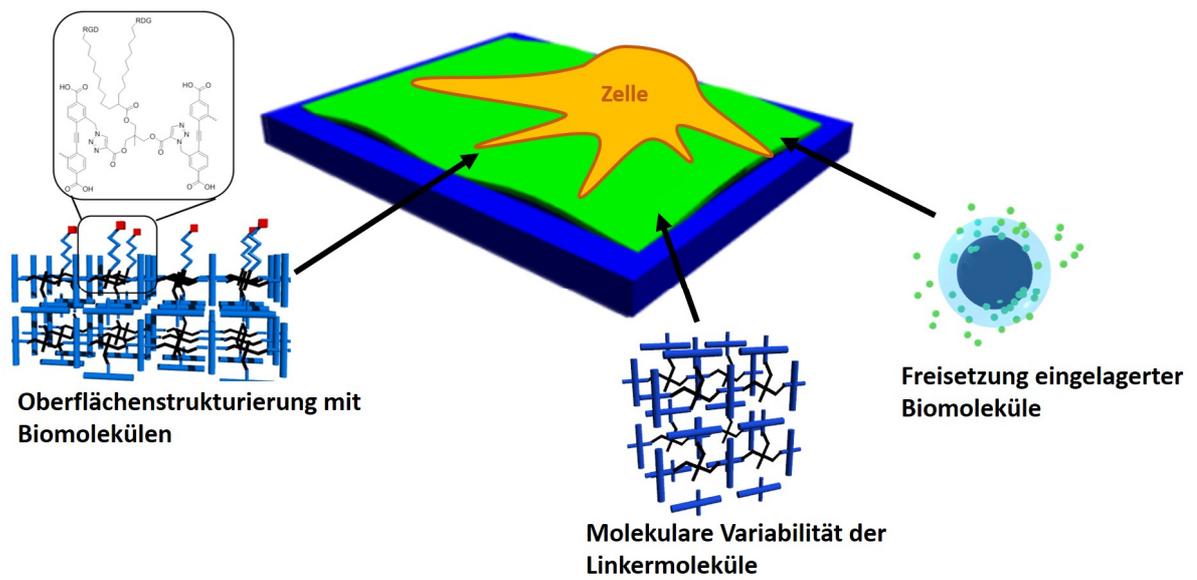


Abb. 36 Hierarchisch strukturierte Biomaterialien die aus molekular strukturierten Materialien aufgebaut werden, können auf mehreren Längenskalen definierte und für die Zellen optimierte Funktionalitäten enthalten.

4.1 Stimuli-responsive Polymersysteme zum Einsatz in der kontrollierten Wirkstofffreisetzung

4.1.1 Einleitung

Wie in der Einleitung in Abb. 12 beschrieben finden die Wechselwirkungen der Zellen mit Biomaterialien auf verschiedenen Ebenen statt, sowohl physikalische Signale, wie Elastizität und Topographie als auch biochemische Signale von umgebenden Molekülen sind entscheidend für das Zellverhalten. Daher ist eine Strukturierung des Materials auf verschiedenen Längenskalen notwendig, um Zellen ideal ansprechen und beeinflussen zu können. In diesem Kapitel wird die hierarchische Strukturierung im Nano- und Mikrometer Bereich diskutiert. Der Aufbau der SURMOFs durch den Lage-für-Lage Aufbau ermöglicht einen relativ leichten Zugang zu einem hierarchisch strukturierten Material. Wie Wang *et.al.* kürzlich zeigen konnte, wird das SURMOF Wachstum nicht durch den Wechsel des Linkermoleküls nach einer gewünschten Anzahl von Zyklen unterbrochen.¹²⁶ So können Multischicht SURMOF-Systeme entworfen werden, deren einzelne Schichten sogar große Unterschiede in der Gitterkonstante aufweisen können.

In diesem Kapitel soll der hierarchische Aufbau von magMOF-Partikeln (Kapitel 1.2.2) zu multilagigen, funktionellen Kapseln gezeigt werden, die für die Wirkstofffreisetzung von Medikamenten eingesetzt werden sollen. Die Bedeutung von magnetischen Nanopartikeln in der medizinischen Anwendung wurde bereits in Kapitel 1.2.3 diskutiert, diese liegt vor allem in der hypothermischen Behandlung von Tumorgewebe. Eine Methode die vor allem in Zusammenhang mit einer medikamentösen Behandlung großen Erfolg zeigt.^{64,127} Die Beschichtung von Nanopartikeln mit einer funktionellen, porösen Schicht die mit Medikamenten beladen, zum Tumorgewebe transportiert und dort durch stimulierte Umgebungsreize wieder freigesetzt werden können, ist ein vielversprechender Ansatz.

Auch der Einsatz von MOFs als Wirkstoffträgermaterialien wurde ausführlich diskutiert, dabei konnten von der Gruppe um Gerard Férey für die direkte Injektion von MOF Partikeln in die Blutbahn gute Ergebnisse hinsichtlich der Stabilität und der Freisetzung gezeigt werden.⁷² Zur oralen Verabreichung wird aber zusätzlich dazu eine mechanische und chemische Stabilität des Materials in der sauren Umgebung des Magens, bzw. der basischen Umgebung des Darms notwendig, die bis heute oft in Form von Tabletten unter Verwendung von Bindemitteln erreicht wird.

Die Möglichkeit eine hierarchisch strukturierte SURMOF-Synthese auf magnetischen Nano- bzw. Mikropartikeln durchführen zu können, kombiniert mit der anschließenden Konversion der SURMOFs zu einem biokompatiblen und wasserstabilen, polymeren Gel, ermöglicht den Aufbau von funktionellen Kapseln.¹²⁸ In diesem Kapitel wird

der Aufbau eines Modellsystems zur Wirkstofffreisetzung durch magGEL Kapseln auf Mikropartikeln beschrieben. Um die Einlagerung und Freisetzung des eingelagerten Stoffes gut verfolgen zu können, wurde mit fluoreszenten Farbstoffmolekülen gearbeitet.

4.1.2 Farbstoffbeladene, hierarchisch strukturierte magMOF-Partikel

Um das Prinzip der hierarchischen Strukturierung von SURMOFs auf magnetischen Fe_3O_4 Nanopartikeln zu zeigen, wurden Schichten mit unterschiedlichen Farbstoffen beladen und mit dem Konfokalmikroskop untersucht. Für die Synthese wurde ein Lage-für-Lage Aufbau des Azid-funktionalisierten [Cu(BA-TPDC)] magMOFs auf magnetischen Fe_3O_4 -Silika Partikel mit einem Durchmesser von etwa 5 μm durchgeführt (siehe Abb. 37). Die detaillierte Synthese der Multilagenpartikel wird in Kapitel 3.6.2 beschrieben, daher wird an dieser Stelle nur eine grobe Übersicht gegeben. Nach der Synthese von 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] ist in den Konfokalmikroskop-Aufnahmen noch keine Fluoreszenz erkennbar (Abb. 37 (1.)). Anschließend wird das blaue, fluoreszente Farbstoffmolekül 450-Amino-Naphta-(imidalkin) **15**, mittels kupferkatalysierter Alkin-Azid Klick-Reaktion an die Azid-Gruppen des magMOFs angebunden. Der blaue Farbstoff ist im Fluoreszenzmikroskop gut sichtbar. Um nun den schichtweisen Aufbau sichtbar zu machen, wurde anschließend eine Zwischenschicht mit 16 Zyklen des nichtfunktionalisierten Terphenyldicarbonsäure (TPDC) Linkers aufgewachsen, um anschließend wiederum für 10 Zyklen zu dem Azid-funktionalisierten (BA-TPDC) zu wechseln. Diese äußere [Cu(BA-TPDC)] Schicht wird nun wiederum mit dem fluoreszenten, roten Farbstoff 55-Red Oxazine Alkin beladen. Betrachtet man diese blau/rot funktionalisierten Partikel nun unter dem Fluoreszenzmikroskop, kann man wie in Abb. 37 (3.) zu sehen, die hierarchische Strukturierung der inneren blauen und der äußeren, roten Schichten erkennen.

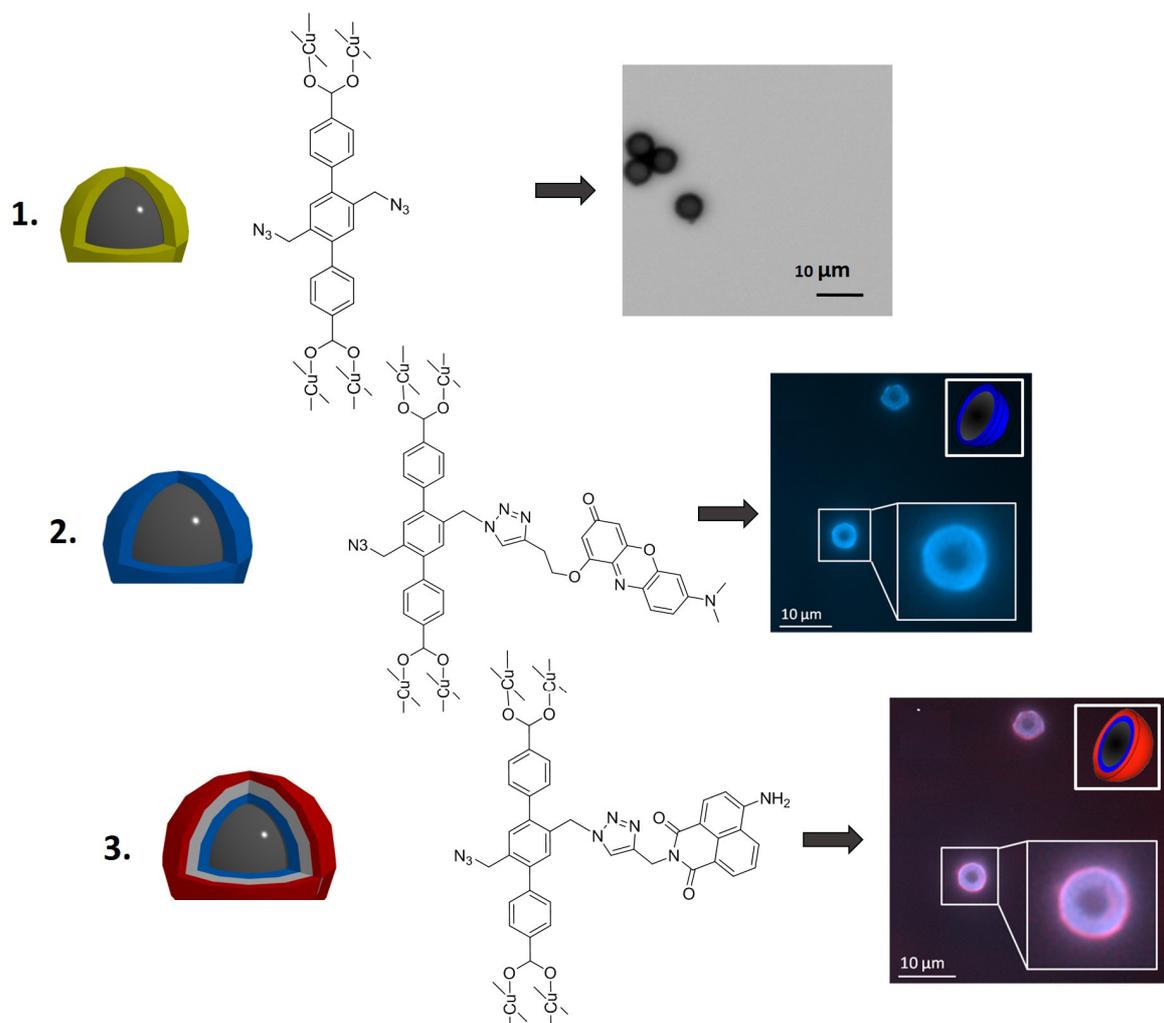


Abb. 37 Hierarchischen Aufbaus der Farbstoffbeladenen magGEL Mikropartikel. Zuerst werden die etwa $5 \mu\text{m}$ großen Fe_3O_4 Partikel mit 10 Zyklen des $[\text{Cu}(\text{BA-TPDC})]$ magMOFs beschichtet (1.), anschließend wird ein blauer Farbstoff angebunden (2.). Nach weiteren 16 Zyklen $[\text{Cu}(\text{TPDC})]$ und 10 Zyklen $[\text{Cu}(\text{BA-TPDC})]$ wird in die äußere Schicht ein roter Farbstoff angebunden (3.). In den Konfokalmikroskop-Aufnahmen kann man den schichtweisen Aufbau der Partikel erkennen.

Der erfolgreiche Schicht-für-Schicht Aufbau kann auch im Röntgendiffraktometer nachverfolgt werden. Abb. 38 zeigt die Diffraktogramme nach 10 Zyklen $[\text{Cu}(\text{BA-TPDC})]$ (schwarz); 10 Zyklen $[\text{Cu}(\text{BA-TPDC})]$ nach dem Anbinden des blauen Farbstoffmoleküls und zusätzlichen 16 Zyklen $[\text{Cu}(\text{TPDC})]$ (blau) und den finalen Partikeln nach zusätzlichen 10 Zyklen $[\text{Cu}(\text{BA-TPDC})]$ mit dem roten Farbstoffmolekül (rot). Die Daten zeigen nicht nur die strukturelle Stabilität des MOFs während der kupferkatalysierten Klick-Reaktion, sondern auch das lineare Wachstum des magMOFs durch den Anstieg der Intensität mit steigender Schichtdicke.

Somit konnte sowohl im Fluoreszenzmikroskop als auch im Röntgendiffraktometer die erfolgreiche Synthese der dreilagigen, hierarchisch strukturierten magMOF Partikel gezeigt werden.

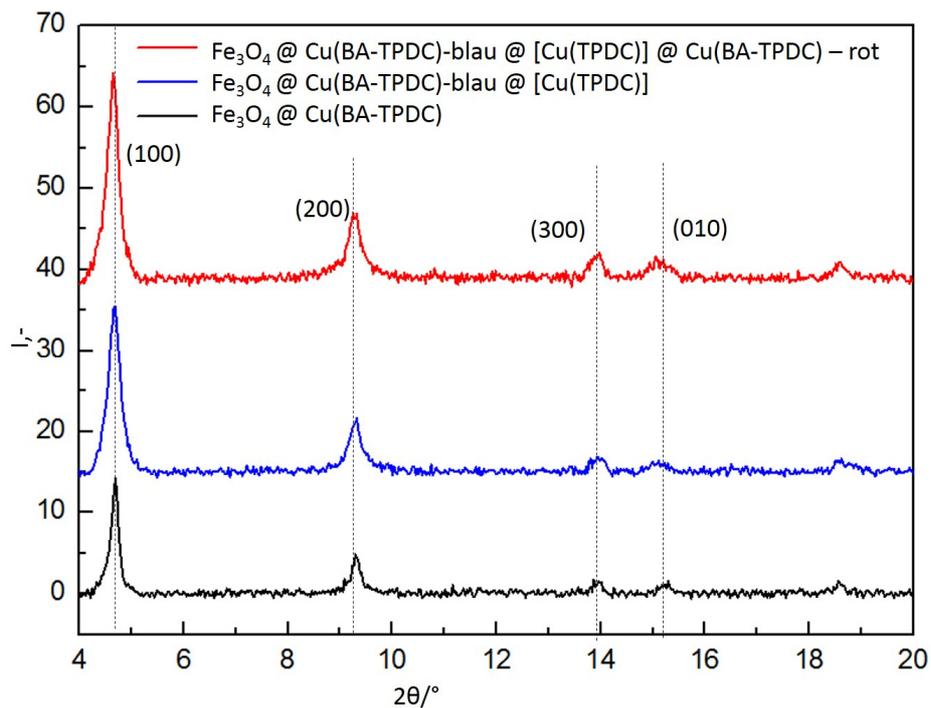


Abb. 38 XRD der unterschiedlichen Stufen der farbstoffbeladenen Mikropartikel. (Unten – schwarz) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)], (Mitte - blau) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] + blauer Farbstoff + 16 Zyklen [Cu(TPDC)], (Oben - rot) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)], (blau) 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] + blauer Farbstoff + 16 Zyklen [Cu(TPDC)] + 10 Zyklen [Cu(BA-TPDC)] + roter Farbstoff.

4.1.3 Konvertierung der magMOF zu magGEL Partikeln

Die von Manuel Tsotsalas für SURMOF-Strukturen entwickelte SURGEL-Konvertierung durch die Quervernetzung der Primärlinker mittels Azid/Alkin Klick-Reaktion wurde auch für die magMOF-Systeme durchgeführt. Dafür wurden $-\text{COOH}$ funktionalisierte Fe_3O_4 Partikel mit einem Durchmesser von 10 nm verwendet und in dem bereits erläuterten Lage-für-Lage Verfahren mit dem kupferbasierten [Cu(BA-TPDC)] MOF beschichtet. Die Beschichtung erfolgt, wie in Kapitel 3.6.1 näher beschrieben durch das alternierende Eintauchen der Partikel in eine Kupferacetat bzw. DA-TPDC Lösung und zwischenzeitlichem Waschen mit Ethanol. Um den linearen Aufbau des magMOFs zu zeigen, werden Partikel mit 10, 20 bzw. 30 Zyklen hergestellt. Nach der magMOF Synthese werden alle Partikel mit dem Trimethylethan-tripropiolat Sekundärlinker in einer Alkin/Azid Klick-Reaktion quervernetzt und anschließend mit einer wässrigen Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) Lösung behandelt, um die Kupferionen zu entfernen. In Abb. 39 sind die einzelnen Schritte der magGEL Konvertierung dargestellt, die

Vollständigkeit der Konvertierung wurde mittels XRD (a) und ATR Infrarotspektroskopie (b) nachverfolgt.

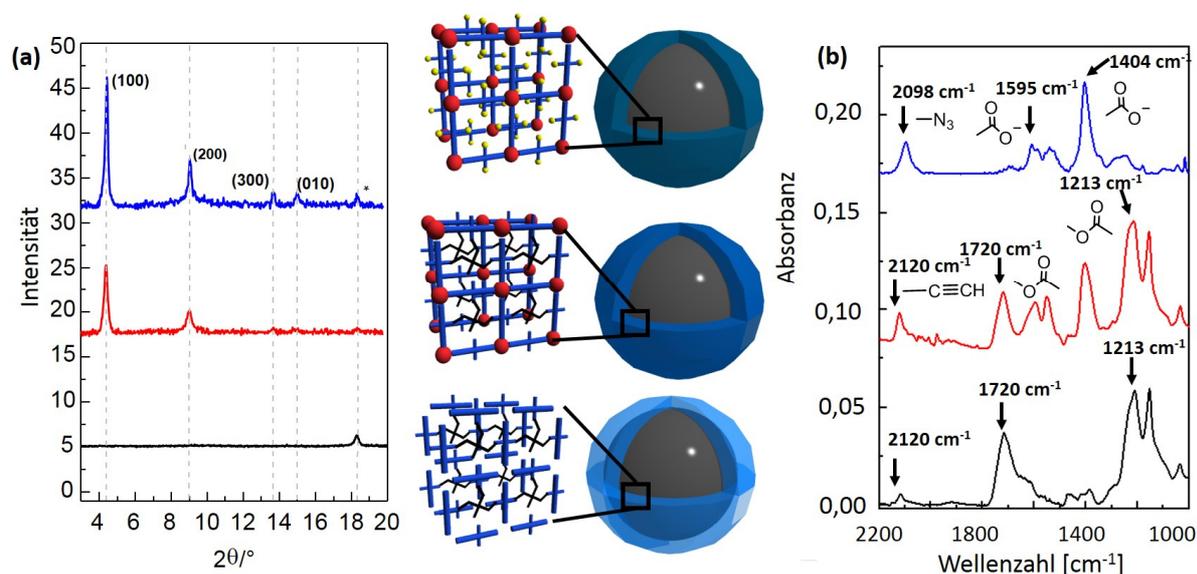


Abb. 39 Darstellung der magMOF Konvertierung in magGEL Partikel. (a) XRD Daten des reinen magMOFs (oben), des quervernetzten magMOFs (mittig) und des magGELs (unten). (b) ATR Infrarotspektren der verschiedenen Konvertierungsschritte (oben) reines magMOF (mittig) quervernetzter magMOF (unten) magGEL.

Im IR-Spektrum des unbehandelten [Cu(TPDC)] magMOFs sind gut die charakteristischen Banden der Carboxylatgruppe bei 1595 cm⁻¹ und 1404 cm⁻¹ zu erkennen. Die erfolgreiche Quervernetzung durch den multifunktionellen Alkin Sekundärlinker wird durch das Auftauchen neuer Banden (Abb. 39 (b) - rot) sichtbar. Während die Intensität der Azid-Bande des BA-TPDC Linkers bei 2098 cm⁻¹ nach dem Quervernetzen stark abnimmt, erscheint zeitgleich die Alkin-Bande des Sekundärlinkers bei 2020 cm⁻¹, sowie die Carbonyl (C=O) Streckschwingung bei 1720 cm⁻¹ und der C–O–C Streckschwingung bei 1213 cm⁻¹, die beide der Estergruppe des Sekundärlinkers zuzuordnen sind. Nach dem Herauslösen der Kupferionen ist durch die Protonierung der Carboxylatgruppen eine Verschiebung von 1595 cm⁻¹ zu den typischen Peaks der Carbonsäure bei 1720 cm⁻¹ zu erkennen

Die XRD Daten des unbehandelten magMOFs zeigen die zu erwartenden Peaks und somit die erfolgreiche Synthese des [Cu(BA-TPDC)] magMOFs. Der Peak bei $2\theta = 18.3^\circ$ ist charakteristisch für die magnetischen Fe₃O₄ Kerne. Wie auch schon in vorhergehenden Arbeiten gezeigt, erwirkt die Beladung des magMOFs mit dem Sekundärlinker keine wesentlichen Veränderungen des XRD Schemas.⁸³ Dies bestätigt dass die Struktur des MOFs während der Quervernetzung nicht verändert oder zersetzt wird. Erst nach dem Entfernen der Kupfer-Ionen ist eine drastische Abnahme der Peak-Intensität zu

beobachten, was mit der Transformation der Struktur zu einem XRD amorphem Gel zu erklären ist.

Für einen weiteren Beweis der erfolgreichen Gel Konvertierung wurden Transmissionselektronenmikroskop (TEM) Messungen durchgeführt. Dafür wurden Partikel mit 10, 20 bzw. 30 Zyklen des [Cu(BA-TPDC)] MOFs zu magGEL konvertiert und anschließend auf einem TEM-Gitter aufgebracht und untersucht. (siehe Abb. 40).

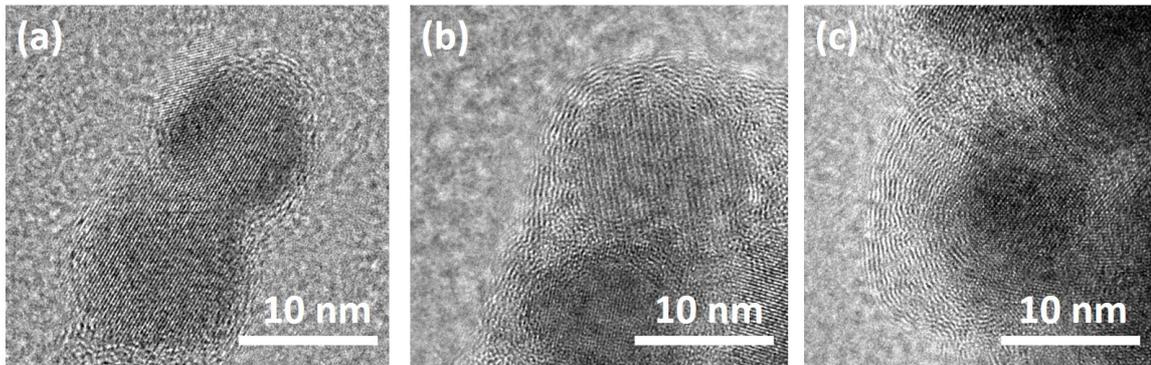


Abb. 40 Transmissionselektronenmikroskop (TEM) Aufnahmen der magGEL Partikel nach 10 (a), 20 (b) und 30 (c) Zyklen.

Man kann erkennen, dass die Schicht des magGELs nach der Konvertierung noch vollständig vorhanden ist und keine Defekte aufweist. Die TEM Aufnahmen wurden nach 10 (a), 20 (b) und 30 (c) Zyklen durchgeführt und zeigen deutlich den linearen Aufbau des magMOFs durch die Lage-für-Lage Synthese. In den TEM Aufnahmen sind in der äußeren SURGEL-Schicht ringartige Strukturen zu erkennen, ob diese von Elektronendichteunterschieden der molekularen Struktur durch den Schicht-für-Schicht Aufbau kommen oder möglicherweise Artefakte der Elektronenbeugung sind ist nicht eindeutig geklärt.

4.1.4 Synthese stimuli-responsiver SURGEL-Kapseln durch multifunktionale Polymerarchitektur

Nach der erfolgreichen Konvertierung von magMOF zu magGEL-Partikeln, sollen die nun schon gewonnenen Kenntnisse über einen hierarchisch strukturierten Aufbau mit dem Ansatz der Gel Konvertierung kombiniert werden. Dieser Ansatz ist vor allem für die Anwendung in der Wirkstoffeinlagerung und –Freisetzung interessant, da innere Schichten der multilagen Partikel mit einem Gastmolekül beladen werden können um sie anschließend mit einer schützenden, polymeren und porösen Gel-Schicht zu umschließen. Bei den hier vorgestellten Partikeln wird eine innere magMOF-Schale mittels Alkin-Azid Klick-Reaktion mit dem fluoreszenten Farbstoff **17** beladen, die Alkingruppe des Farbstoffes

wird mittels Ringspannung aktiviert, so dass die Reaktion ohne Kupferkatalysator ablaufen kann (SPAAC – aus dem englischen strain-promoted azide-alkyne cycloaddition). Anschließend wird die Schicht-für-Schicht Synthese des azid-funktionalisierten [Cu(BA-TPDC)] weitergeführt, um eine zweite Schale um die fluoreszenten Partikel herum aufzuwachsen. Wie in Abb. 41 gezeigt, wird im letzten Schritt die äußere Schale mit dem multifunktionellen Alkin-Sekundärlinker quervernetzt. Die detaillierte Synthese der Partikel wird in Kapitel 3.6.3 beschrieben.

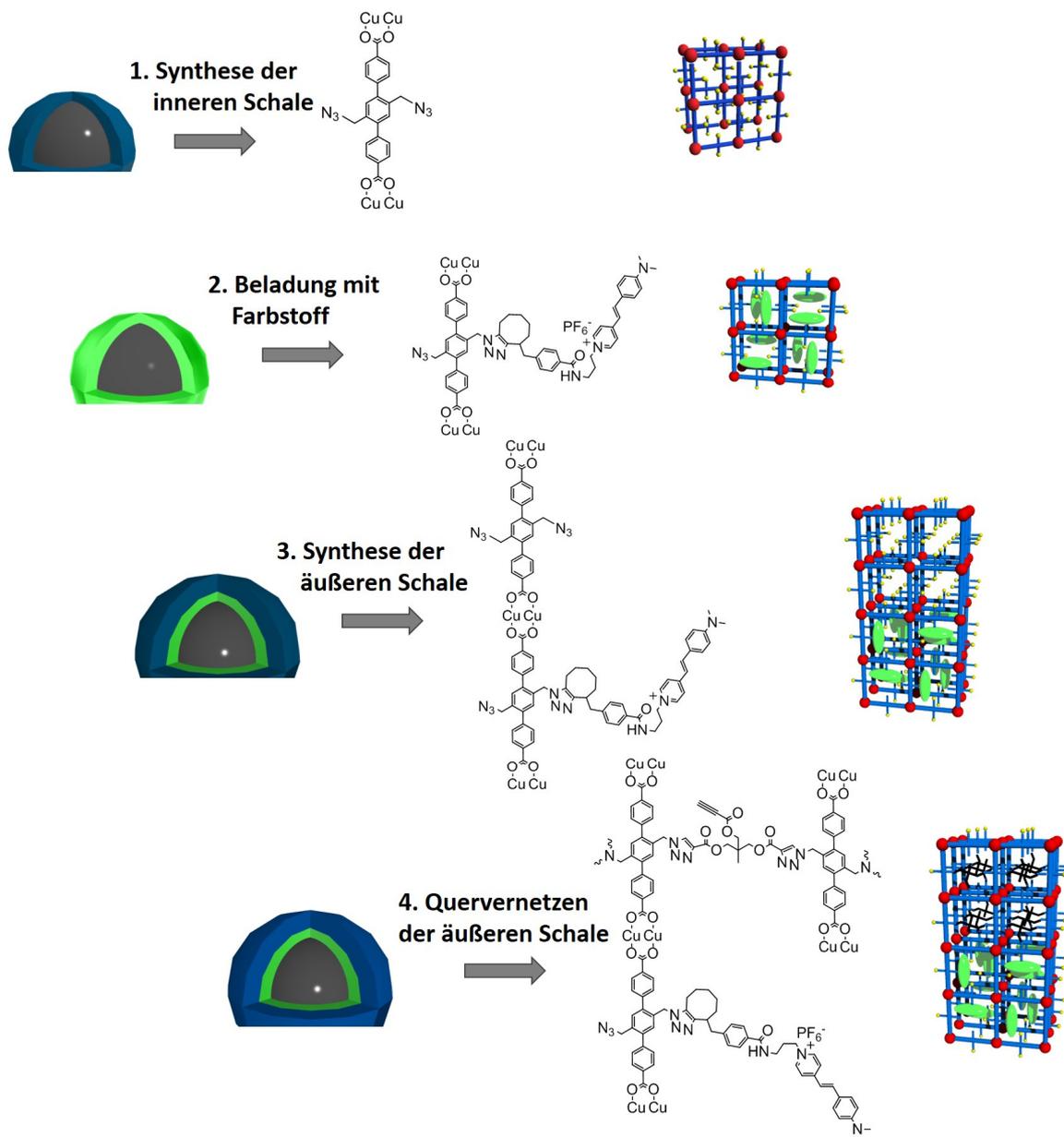


Abb. 41 Schematischer Aufbau der farbstoffbeladenen magGEL-Kapseln, die erste durch Schicht-für-Schicht Synthese aufgebaute magMOF-Schale wird mit einem fluoreszenten Farbstoff beladen. Anschließend wird die zweite Schicht magMOF auf die erste aufgebaut und mit dem multifunktionellen Alkin quervernetzt.

Werden diese multilagigen Partikel nun in eine wässrige EDTA-Lösung gegeben, wird die äußere, quervernetzete Schicht in ein polymeres Gel umgewandelt. Die innere Schicht hingegen, in der die Linkermoleküle nicht miteinander vernetzt wurden, sondern lediglich mit einem monotope(n) Farbstoff funktionalisiert wurden, wird sich beim Herauslösen der Kupferionen zersetzen (siehe Abb. 42)

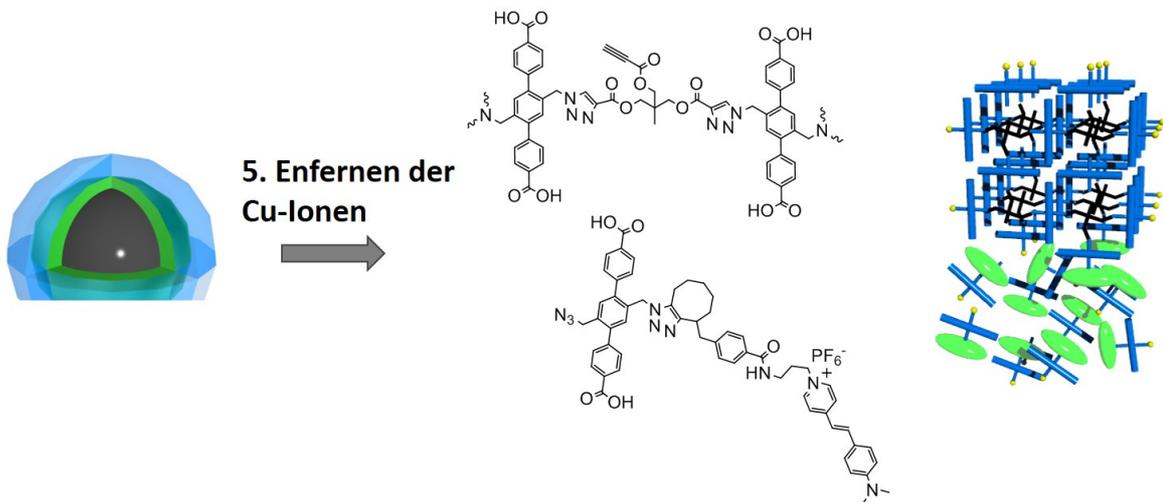


Abb. 42 Das Herauslösen der Kupferionen führt zu einer Gel-Konversion der äußeren Schicht und zu einer Zersetzung der inneren, Farbstoff-funktionalisierten Schicht. Der Farbstoff wird jedoch durch die äußere, polymere Schicht in der Kapsel eingeschlossen.

Durch die schützende äußere magGEL-Schicht werden die Linker-Farbstoff-Fragmente zwischen der polymeren, äußeren Schicht und den Fe_3O_4 -Kernen eingeschlossen. Um die farbstoffbeladenen Kapseln zu Charakterisierung und zu überprüfen, ob sich der Farbstoff noch in den Kapseln befindet, wurden Konfokalmikroskop-Aufnahmen der Kapseln vor und nach der EDTA-Behandlung aufgenommen.

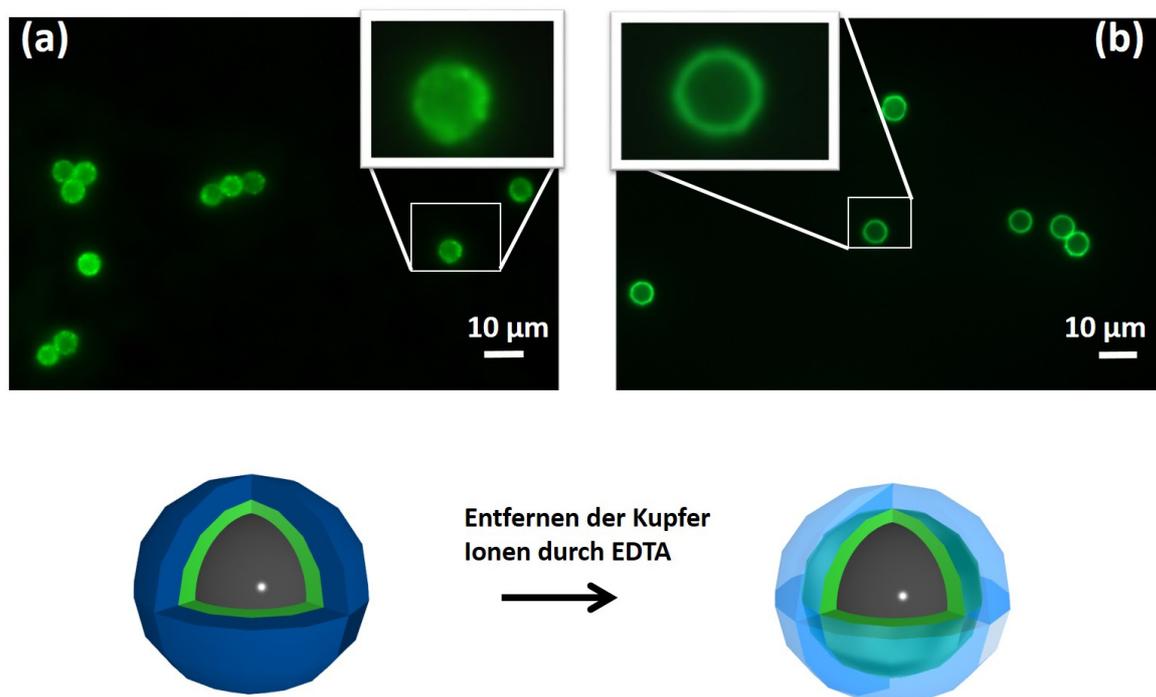


Abb. 43 Konfokalmikroskop-Aufnahmen der magGEL-Kapseln, vor (a) und nach (b) dem Entfernen der Kupfer-Ionen mittels wässriger EDTA-Lösung.

Wie in Abb. 43 zu erkennen, ist sowohl vor (a) als auch nach (b) dem Herauslösend der Kupferionen mittels wässriger EDTA-Lösung der fluoreszente Farbstoff in der Korona zu erkennen. Das zeigt zunächst die vollständige Gel-Konvertierung, da sich der Farbstoff noch in der Kapsel befindet und nicht durch eventuelle Löcher oder Risse der äußeren Polymerschicht diffundiert. Daraus lässt sich auf eine vollständige und defektfreie Polymerschale schließen. Zusätzlich ist zu erkennen, dass die Verteilung des Farbstoffes in der Korona nach der EDTA-Behandlung sehr viel gleichmäßiger vorliegt. Dies lässt sich mit dem Auflösen des MOF-Gerüsts in der inneren Schale erklären. Während der Farbstoff nicht exakt gleichmäßig in die Poren der inneren MOF-Schale angebonden wurde, können sich die Fragmente nach dem Auflösen der Struktur frei und gleichmäßig in der Schicht zwischen dem inneren Fe_3O_4 Kern und der äußeren magGEL-Schale bewegen.

4.1.5 Fluoreszenzfarbstoffbeladene SURGEL-Kapseln als Modellsystem für die Wirkstofffreisetzung

Für eine kontrollierte Freisetzung des eingelagerten Farbstoffes wird in der umgebenden polymeren Gel-Schicht eine Schwellung induziert. Dazu werden die Kapseln in eine basische, wässrige Lösung gegeben, durch die Deprotonierung der freien Carboxylgruppen des magGELs werden abstoßenden Wechselwirkungen der negativen Ladungen induzieren und somit eine Schwellung des Gels hervorgerufen.¹²⁹ (siehe Abb. 44)

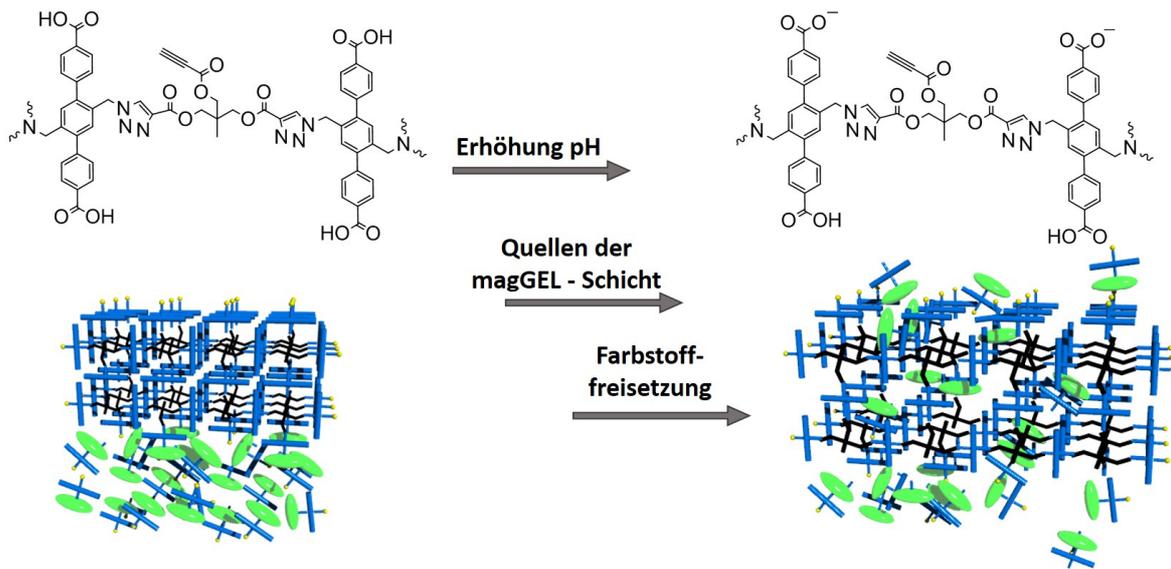


Abb. 44 Darstellung der durch pH Erhöhung induzierten Schwellung des magGELs und die damit ausgelösten Freisetzung der Farbstoffmoleküle.

Die Untersuchungen der Quellung des Gels und der Farbstofffreisetzung wurden mittels Emissionsspektroskopie durchgeführt. Dafür wurden die magGEL-Kapseln in wässrigen NaOH-Lösungen von pH 7 bis pH 13 suspendiert und nach 30 min magnetisch abgetrennt. Von den umgebenden Lösungen wurden Emissionsspektren aufgenommen, wie in Abb. 45 (b) zu erkennen wird die Freisetzung des Farbstoffes aus den Kapseln ab pH 11 ausgelöst. Bei pH 12 und pH 13 ist ein weiterer Anstieg der Farbstoffkonzentration in der umgebenden Lösung zu erkennen. Die Kinetik der Freisetzung in einem umgebenden Medium mit pH 11 wurde ebenfalls gemessen (Abb. 45 (b)), dafür wurden die magGEL-Kapseln für unterschiedliche Zeiten in der Lösung suspendiert und anschließend magnetisch abgetrennt. Es ist zu erkennen, dass das Intensitätsmaximum nach etwa 120 min erreicht wurde.

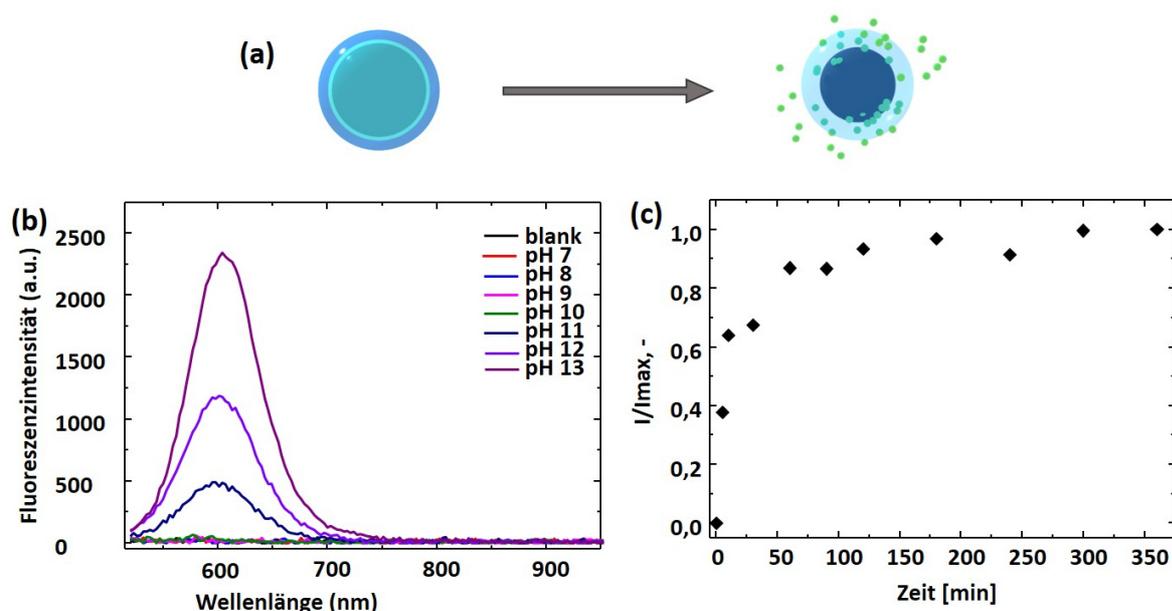


Abb. 45 Emissionsspektroskopische Untersuchung der Farbstofffreisetzung während des Quellens. (a) Schematische Darstellung der Farbstofffreisetzung. (b) Emissionsspektren der umgebenden Lösungen verschiedener pH Werte nach 30-minütiger Suspension der magGEL-Kapseln. (c) Kinetik der Farbstoff-freisetzung in pH 11.

Die pH-anhängige Schwellung des Gels kann wie folgt erklärt werden: Wird der pH-Wert der umgebenden Lösung erhöht, diffundiert das NaOH in die obere Schicht des Gels, was zu einer Deprotonierung dieser oberen Schicht führt. Während die OH⁻-Ionen mit den Protonen der Säuregruppe Wasser bilden, verbleiben die Na⁺-Ionen zum Ladungsausgleich im Gel. Um eine weitere Deprotonierung der inneren Schichten zu erreichen, müssen die Na⁺-Ionen und die OH⁻-Ionen an denen an der äußeren Schicht lokalisierten Na⁺-Ionen vorbei diffundieren. Wenn die Konzentration der Na⁺-Ionen in der äußeren Schicht größer als in der Lösung ist, baut sich ein sogenanntes Donnan-Potential auf, das die Natriumionen von dem weiteren Eindiffundieren ins Gel hindert.^{130,131} Erst wenn die Konzentration der Na⁺-Ionen im umgebenden Medium einen kritischen Wert übersteigt, wird die Diffusion weiter fortgesetzt und die Deprotonierung des gesamten Gels ausgelöst. Dies erfolgt der Literatur zufolge etwa bei Konzentrationen zwischen 10⁻³ bis 10⁻² M, was einem pH-Wert von pH 11 – pH 12 entspricht.¹³⁰ Dieses Verhalten, das für viele Hydrogele beobachtet wird, spiegelt genau unsere Ergebnisse wieder, bei denen die Schwellung trotz der relativ niedrigen pK_s-Wertes der Carbonsäure-Gruppen erst bei pH 11 beginnt.

4.1.6 Kontrollierte Farbstoffabgabe und Wiederbeladung der Kapseln

Wie im vorherigen Kapitel diskutiert, verhält sich das SURGEL durch die freien Carbonsäuregruppen im Quellverhalten in vielerlei Hinsicht wie herkömmliche Hydrogele. Viele Studien zeigen die Eignung von Hydrogelen zur Beladung und Freisetzung von

Wirkstoffen, dabei wird deutlich, dass die Einlagerung von Substanzen in Hydrogele vielen Einflüssen unterliegt. Sowohl die Hydrophilie des Gels und des einzulagernden Stoffes, als auch die Wechselwirkungen des umgebenden Mediums mit dem Gel während des Quellprozesses spielen eine Rolle.^{132,133} Die Beladung bei hohen pH Werten kann zu einer Ionisierung des einzulagernden Stoffes führen und die Einlagerung in das negativ geladene Gel verhindern.¹³⁴

Um die Wiederbeladung der Kapseln zu untersuchen, wurden diese nach der erfolgreichen Freisetzung des eingelagerten Farbstoffes zuerst mittels Rasterelektronenmikroskopie (SEM) untersucht, um die Intaktheit der magGEL-Schale nach der Behandlung mit basischen Lösungen zu überprüfen. Auf den in Abb. 46 gezeigten Aufnahmen sind die magGEL-Kapseln direkt nach der EDTA Behandlung (a) und nach einer 30 minütigen Suspension in eine NaOH-Lösung mit pH 11 zu sehen. Es ist zu erkennen, dass die magGEL-Schale noch vollständig und intakt vorhanden ist.

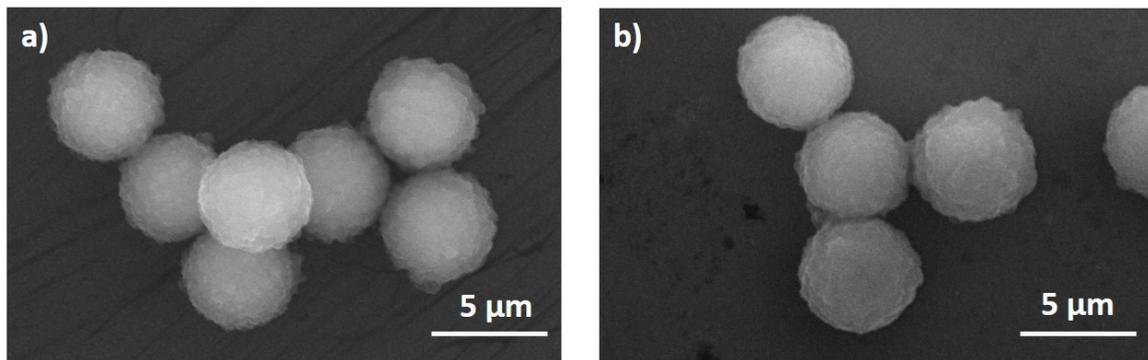


Abb. 46 SEM Aufnahmen der magGEL Kapseln (a) direkt nach der EDTA-Behandlung und (b) nach der Farbstofffreisetzung in wässriger NaOH-Lösung mit pH 11.

Nachdem die Stabilität der magGEL-Kapseln in wässriger NaOH-Lösung gezeigt werden konnte, wurden die Partikel für eine Wiederbeladung mit einem zweiten, fluoreszenten Farbstoff (Fluorescein) vorbereitet. Dafür wurden die ursprünglichen, mit grünem Farbstoff beladenen magGEL-Kapseln gründlich in wässriger NaOH-Lösung gewaschen, um den grünen Farbstoff freizusetzen. Anschließend wurden verschiedene Beladungsstrategien getestet, in dem von Sada et.al. publizierten Artikel über Gel-Konvertierung verschiedener MOFs konnte gezeigt werden, dass die Schwellung des Gels nicht nur mit basischen, wässrigen Lösungen, sondern auch mit verschiedenen Lösungsmitteln, wie DMSO induziert werden kann. Die Partikel wurden in einer 10 mM Lösung von Fluorescein in DMSO bzw. wässriger NaOH Lösung (pH 13) gelagert und anschließend in einer sauren HCl Lösung (pH 5) gewaschen, um die Poren wieder zu verschließen. Nach dem Beladungsschritt wurden die Partikel wiederum für 30 min in einer

wässrigen NaOH Lösung belassen, von dieser Lösung wurde anschließend ein Absorptionsspektrum aufgenommen (siehe Abb. 47).

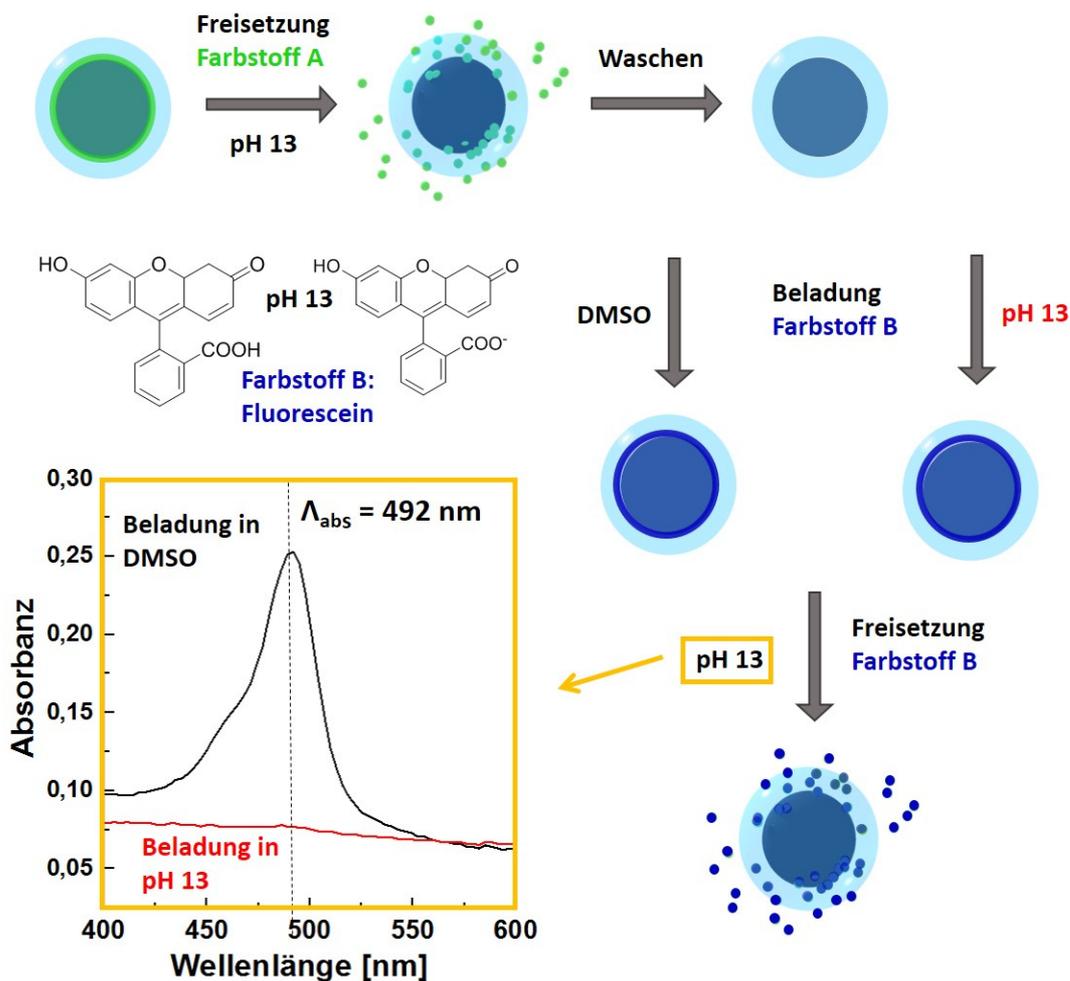


Abb. 47 Schematische Zeichnung der Freisetzung und Beladung der magGEL-Kapseln mit Fluorescein in verschiedenen Lösungsmitteln.

Die Untersuchung des 2. Entladungsschrittes lässt erkennen, dass nur die in DMSO beladenen Kapseln eine Freisetzung des Fluoresceins zeigen. Das Absorptionsmaximum von Fluorescein liegt bei 492 nm. Das liegt höchstwahrscheinlich daran, dass Fluorescein in basischen Lösungsmitteln deprotoniert wird und eine negativ geladene Form annimmt. Dadurch ergeben sich abstoßende Wechselwirkungen mit dem ebenfalls anionischen Gel.

4.1.7 Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen die erfolgreiche Herstellung hierarchisch strukturierter magMOF Partikel, die mit verschiedenen, kovalent gebundenen Farbstoffen beladen werden können. Anschließend wurden SURGEL Kapseln durch die Synthese von hierarchisch strukturierten magMOF Partikeln, gefolgt von dem Vernetzen der äußeren

Schicht und dem Entfernen der Kupferionen mit EDTA hergestellt. Es wurde gezeigt, dass die SURGEL Kapseln mit einem Farbstoffmolekül beladen werden können und dieses kontrolliert durch Einflüsse des umgebenden Mediums wieder freigesetzt werden kann. Die Freisetzungskinetik kann mit Einstellen des äußeren pH Wertes verändert und kontrolliert werden.

Dieses Modellsystem kann verwendet werden um eine schützende Umgebung für ein oral verabreichtes Medikament zu schaffen. Die saure Umgebung des Magens ist nicht immer ideal für die Aufnahme von Medikamenten, eingeschlossen in die SURGEL Kapseln, können diese vor der Freisetzung geschützt in dem Darm weitertransportiert werden. Erst durch die pH Wert Änderung im Darm wird das magGEL in den gequollenen Zustand übergehen und den eingeschlossenen Wirkstoff freisetzen. In der basischen Umgebung des Darms kann das Medikament dann in den Blutkreislauf aufgenommen werden.¹³⁵

Der Vorteil der hier vorgestellten Kapseln gegenüber den bereits verwendeten Hydrogelen ist der modulare Aufbau aus Metall-organischen Gerüstverbindungen. Durch Änderungen der organischen Liganden oder Metalle können die Eigenschaften der Poren und des Gerüsts verändert und den entsprechenden Medikamenten angepasst werden. Des Weiteren konnte bereits gezeigt werden, dass die SURGELe für eine postsynthetische Modifikation (PSM) zur Verfügung stehen,¹³⁶ dadurch eröffnen sich weitere Möglichkeiten die Poreneigenschaften hinsichtlich der gezielten Freisetzung zu verändern. Das große Interesse und Verbesserungsbedarf hinsichtlich einer idealen, Umgebungs-gesteuerten Freisetzung von Medikamenten besteht, zeigen viele neuere Publikationen auf diesem Gebiet.^{30,137,138}

4.2 Biofunktionalisierung der Oberflächen für die Verwendung als Zellkultursubstrate

4.2.1 Einleitung

Nachdem sowohl der molekulare Aufbau des SURGELs als auch die hierarchische Strukturierung hinsichtlich einer biologischen Anwendung optimiert wurde, wird in diesem Kapitel auf eine strukturierte Biofunktionalisierung eingegangen. Die Entwicklung von Biomaterialien zum Einsatz als Implantat oder stützendes Material für den Gewebsaufbau brachte in den letzten Jahrzehnten viele Neuerungen. In den achtziger Jahren basierten die meisten Implantate auf Materialien wie Titan oder Edelstahl, Polytetrafluorethylen (PTFE) und Polymethylmetacrylat (PMMA) die „inert“ und damit ohne Abstoßungsreaktionen im Körper verbleiben.¹³⁹ Erst Ende der neunziger Jahre wandte sich die Forschung bioaktiven Implantat-Materialien zu, die unterstützend beim körpereigenen Gewebsaufbau mitwirken.¹⁴⁰ Neue Erkenntnisse führten im letzten Jahrzehnt zu dem Ansatz der regenerativen Medizin, in der Gewebe um biomimetische Materialien herum aufgebaut werden. Dafür müssen Materialien entwickelt werden, die dem natürlichen Aufbau von Geweben weitestgehend entsprechen.¹⁴¹ Verschiedene Strategien, die Eigenschaften der natürlichen Umgebung der Zellen, der extrazellulären Matrix (ECM) in künstliche Polymere zu integrieren, werden in einem Review von Hutmacher et al. zusammengefasst.¹⁴² Strukturveränderungen im Nanometerbereich können bereits zu Änderungen im Zellverhalten führen, so gibt es einige Studien über das Einbringen von linearen oder cyclischen RGD Sequenzen in Biomaterialien, die zu einer Verbesserten Zellanbindung führen.¹⁴³ Wie in der Einleitung schon beschrieben wurde ist RGD eine aus der ECM bekannte Aminosäuresequenz, die Integrine der Zellen koppeln mit dem RGD und führen zu einer mechanischen Verankerung der ECM mit dem zellinternen Cytoskelett.

Um die Eignung des SURGELs für die Beschichtung von Implantatoberflächen zu untersuchen, wurden in diesem Kapitel die Wechselwirkungen mit verschiedenen knochenbildenden Zellsystemen untersucht. Anschließend wird eine strukturierte Oberflächenfunktionalisierung mit Biomolekülen vorgenommen, um eine verbesserte Anbindung der Zellen zu erreichen.

4.2.2 Mesenchymale Stammzellen (MSC) und deren Kultivierung auf den SURGEL-Substraten

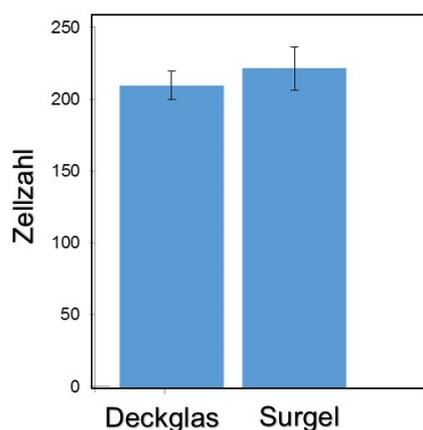
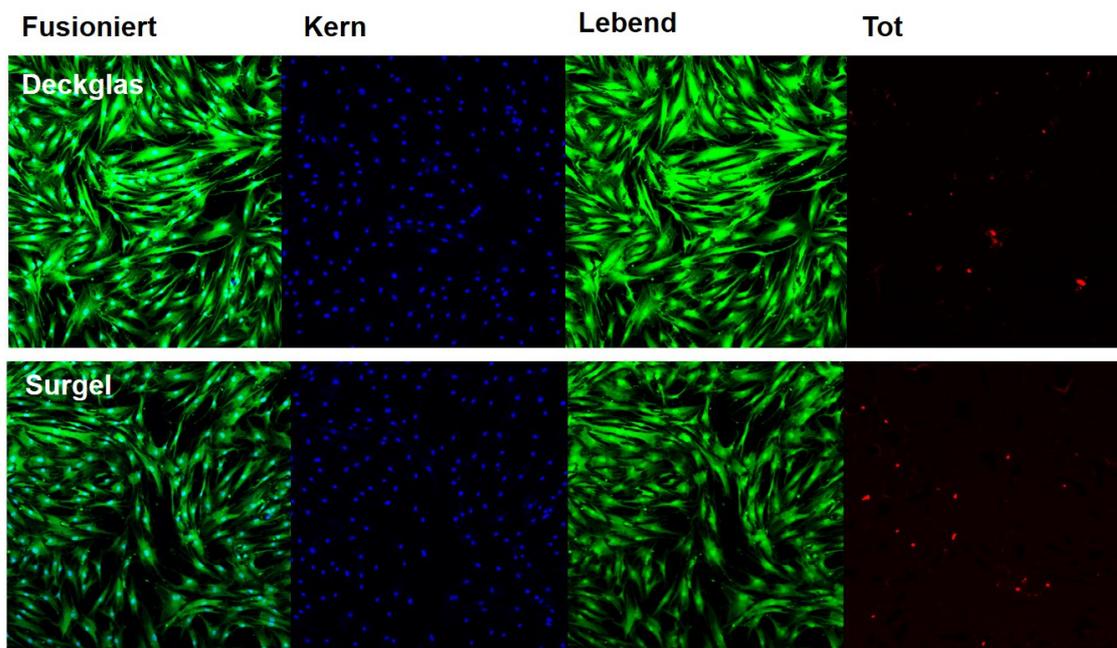
In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Rachel Ee von der Universität Singapur, wurden die SURGEL Substrate auf das Wachstum von mesenchymalen Stammzellen (MSC) getestet. MSC sind multipotente, adulte Stammzellen, die zu Knochen,

Knorpel und Bindegewebe differenzieren können. Im Hinblick auf die Osteointegration von Implantaten spielen MSCs eine besonders große Rolle, da bei einer guten Anbindung der MSCs an die Implantatoberfläche eine schnelle und abstoßungsfreie Integration des Implantats in den Knochen oder Gewebe zu erwarten ist.

Die Fähigkeit der Stammzellen sich zu unterschiedlichen Körperzellen weiterzuentwickeln, ist sehr interessant für die Entwicklung von Biomaterialien. Viele Arbeiten zielen darauf ab, diese Differenzierung durch gezielte äußere Reize steuern zu können.¹⁴⁴ In der natürlichen Umgebung der extracellulären Matrix (ECM) geben sowohl die Topographie und Verankerung der ECM als auch Wachstumsfaktoren in der Mikroumgebung der Zelle den Anlass zur gezielten Differenzierung. Die exakte Steuerung der Mikroumgebung einer Zelle auf einem künstlichen Biomaterial zur kontrollierten Differenzierung wäre ein großer Fortschritt bei der Entwicklung von generativen Implantaten.

Für erste Tests wurden Toxizitätsstudien der MSC auf den SURGEL Substraten durchgeführt. Für die Verwendung als Zellsubstrat wurde das SURGEL in einem von Ai et al. entwickelten Verfahren auf ein transparentes Glassubstrat übertragen.^{123,124} Die Membran wird nach der vollständigen Synthese auf einem mit Gold-beschichteten Glimmer Substrat mittels Spincoating mit einer stabilisierenden PMMA Schicht bedeckt und anschließend durch Ätzen der Goldschicht von dem Glimmer Substrat abgetrennt. Anschließend kann die PMMA stabilisierte Membran auf das Glas Substrat übertragen werden, die detaillierte Übertragungsrouten wird in Kapitel 3.7 beschrieben.

Es wurden Toxizitätsstudien der MSC Zellen auf den SURGEL-Membranen im Vergleich zu dem umgebenden Deckglas durchgeführt. Sterile Deckgläser sind bekannte Zellwachstumssubstrate auf denen die MSC ein gutes Wachstum zeigen und sind daher gut als Vergleich geeignet.¹⁴⁵ In Abb. 48 werden Konfokalmikroskop-Aufnahmen der MSC Zellen nach drei Tagen Inkubationszeit gezeigt, die verschiedenen Aufnahmen zeigen jeweils die blau angefärbten Kerne, die lebenden Zellen in Grün und die toten Zellen in Rot. Es ist zu erkennen, dass die Dichte der lebenden Zellen auf dem SURGEL und auf dem Deckglas jeweils sehr hoch ist, während die Zahl der toten Zellen in beiden Fällen gering ausfällt. Dies zeigt deutlich, dass das SURGEL keinerlei Toxizität gegenüber den MSCs aufweist. Gleichzeitig ist in der statistischen Auswertung der Zellzahlen von 10 Feldern zu erkennen, dass die Anzahl der Zellen auf dem SURGEL etwas höher liegt als auf dem umgebenden Glas.



	Deckglas	SURGEL
1	207	209
2	214	218
3	204	239
4	208	220
5	219	226
6	199	258
7	208	211
8	209	215
9	234	218
10	205	211
AVE	210.7	222.5
SD	9.821178929	15.255236

Abb. 48 (Oben) Konfokalmikroskop Aufnahmen von MSC Zellen auf dem Deckglas und dem SURGEL (Unten) Durchschnittliche MSC Zellzahlen, genommen von 10 Feldern, ($p > 0.05$), es ist zu erkennen, dass auf dem SURGEL mehr Zellen anwachsen, als auf dem umgebenden SURGEL.

Damit kann die prinzipielle Eignung des SURGELS für die Verwendung als Zellwachstumssubstrat bestätigt werden. Die hohe Variabilität des SURGELS bietet nun vielfältige Möglichkeiten das Zellverhalten durch Oberflächenfunktionalisierung oder Beladung der Poren positiv zu beeinflussen.

4.2.3 Die CAL-72 Zelllinie und deren Kultivierung auf den SURGEL-Substraten

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Conny Lee-Thedieck, wurden SURGEL-Beschichtungen ebenfalls als Substrate für die Kultivierung von CAL-72 Zellen verwendet. CAL-72 ist eine osteoblastenähnliche Zelllinie, die aus Osteosarkomen - einer Form von

Knochenkrebs, gewonnen wird.¹⁴⁶ Osteoblasten sind knochenbildende Zellen und spielen eine große Rolle bei der Osteointegration von Implantaten, worunter man die strukturelle und funktionelle Integration von künstlichem Implantat Gewebe und dem umgebenden Knochengewebe versteht. Für die Verwendung des SURGEL als Beschichtungsmaterial für Implantatoberflächen ist es also wichtig, die Wechselwirkungen der Osteoblasten mit dem SURGEL zu untersuchen.

Um eine ideale Zellanbindung der CAL-72 Zellen auf den SURGEL Substraten zu erreichen, wurden diese mit der Aminosäuresequenz RGD funktionalisiert. Für eine kovalente Anbindung werden die nicht abreagierten Alkin Gruppen des Sekundärlinkers genutzt und in einer UV-induzierten Thiol-in Klick-Reaktion mit der Thiol-Gruppe des endständigen Cysteins der Aminosäuresequenz umgesetzt (siehe Abb. 49).

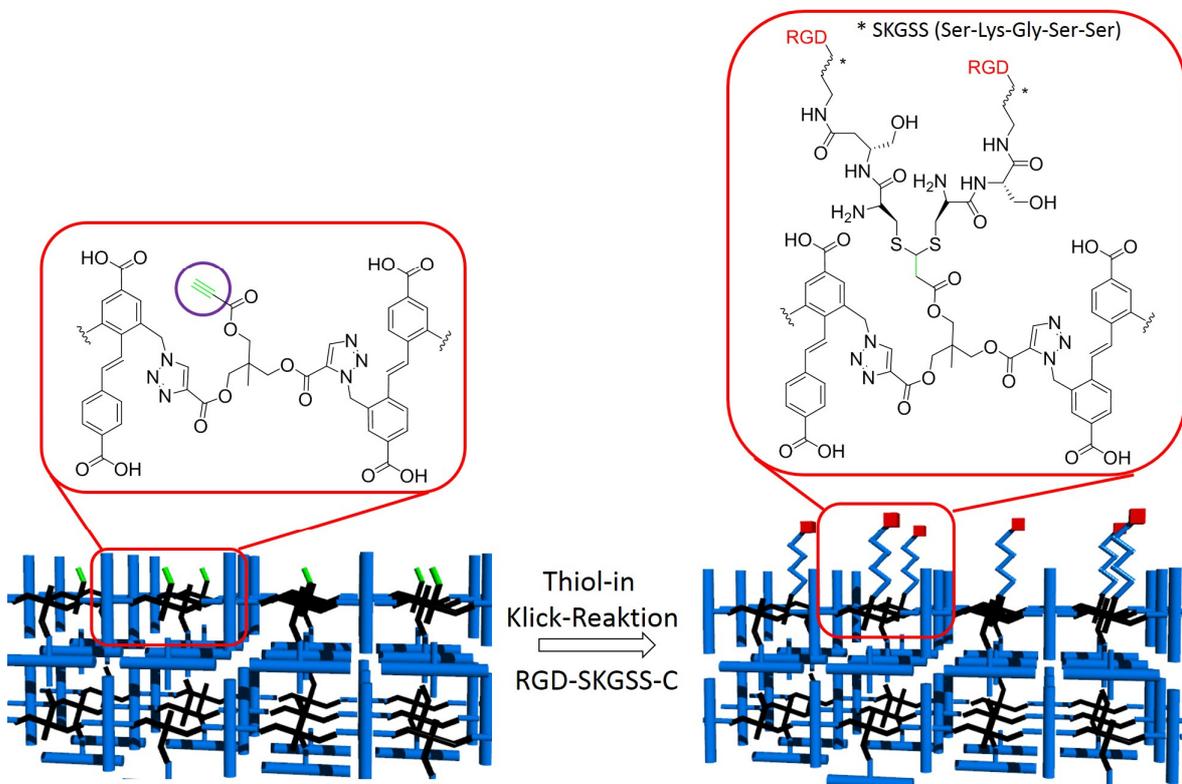


Abb. 49 Schematische Darstellung der Bio-funktionalisierung des SURGELs. Die nicht abreagierten Alkin Gruppen des Sekundärlinkers werden in einer Thiol-in Klick Reaktion mit der Thiol-Gruppe des endständigen Cysteins der Aminosäuresequenz verbunden.

Um die erfolgreiche RGD Funktionalisierung zu charakterisieren, wurden die Proben mittels IRRASpektroskopie und QCM untersucht.

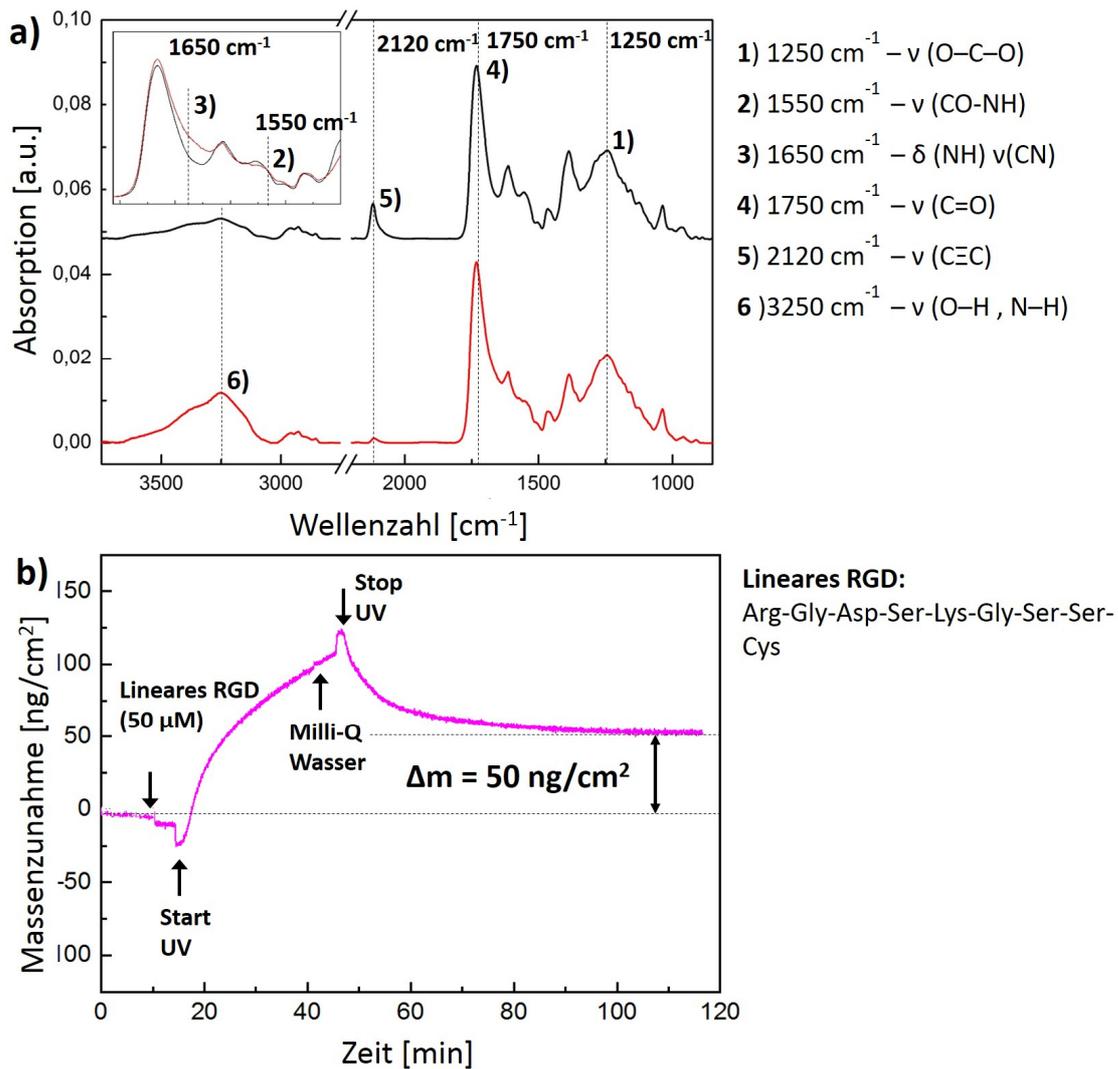


Abb. 50 (a) IRRA Spektrum des SURGEL vor (schwarz) und nach (rot) der Oberflächenfunktionalisierung mit RGD. (b) In-situ QCM Messungen der RGD Beladung des SURGELs.

Das IRRA Spektrum in Abb. 50 (a) zeigt im Vergleich den SURGEL Film (schwarz) und den Film nach dem Funktionalisieren der Oberfläche mit linearem RGD (rot). Die charakteristischen Banden des SURGELs, die Carbonyl-Streckschwingung bei 1750 cm^{-1} und die O-C-O Streckschwingung des Sekundärlinkers bei 1250 cm^{-1} sind in beiden Spektren gut zu erkennen. Nach der Klick-Reaktion ist eine deutliche Abnahme des Alkin Peaks bei 2120 cm^{-1} zu erkennen, was bereits auf eine erfolgreiche Thiol-in Reaktion des Alkins mit der Thiol Gruppe des RGDs hindeutet. Die typischen Aminosäure-Banden, hauptsächlich die CO-NH (1550 cm^{-1}) und CN (1650 cm^{-1}) Streckschwingungen sind nach der Klick Reaktion als Schulter der intensiveren SURGEL Peaks zu erkennen. Die geringe Intensität der Aminosäurepeaks ist mit der kovalenten Anlagerung von lediglich einer Monolage RGD zu erklären, was auch an den QCM Messungen deutlich wird. Die QCM Messung wurde in

einer UV transparenten QCM Zelle vorgenommen, der auf einem Gold-Mica synthetisierte SURGEL Film wurde dafür mit der in Kapitel 3.7. erläuterten Technik auf das QCM Substrat übertragen. Nach dem Stabilisieren der Basislinie mit Wasser wurde eine wässrige 50 μM RGD Lösung über das Substrat geleitet. Wie in Abb. 50 zu erkennen, wird erst mit dem Einschalten der UV Lampe eine Massenzunahme sichtbar. Der Anstieg bzw. Abfall der Masse während des Einschaltens und Ausschaltens der UV Lampe ist ein thermischer Effekt. Nach dem Einstellen des Gleichgewichts wird die UV Lampe ausgeschaltet und das QCM Substrat mit Wasser gespült. Anschließend ist eine Massenzunahme von 50 ng/cm^2 zu erkennen. Damit lässt sich die Stoffmenge der RGD Moleküle auf der Oberfläche berechnen.

$$n = \frac{m}{M} = \frac{50 \cdot 10^{-9} \text{g}}{952 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 5.25 \cdot 10^{-11} \text{mol} \quad (4.1)$$

Mit der Avogadro Konstante lässt sich anschließend die Teilchenanzahl pro Quadratzentimeter berechnen.

$$N = n \cdot N_A = 5.25 \cdot 10^{-11} \text{mol} \cdot 6,022 \cdot 10^{23} \text{mol}^{-1} = 3.14 \cdot 10^{13} \quad (4.2)$$

Es befinden sich also $3.14 \cdot 10^{13}$ Teilchen/ cm^2 und damit 0.314 Teilchen pro nm^2 auf der SURGEL Oberfläche. Das passt sehr gut mit den theoretischen Überlegungen überein, da für die kovalente Anbindung des RGDs die nicht abreagierten Alkin-Gruppen des Sekundärlinkers verwendet werden. Pro Pore befindet sich theoretisch ein Sekundärlinker, jedoch ist statistisch nicht an jedem Sekundärlinker eine Alkin Gruppe vorhanden oder sterisch zugänglich. Geht man von einer ungefähren Porengröße von 1 nm aus, ist statistisch in jeder dritten Pore eine freie, reaktive Alkingruppe vorhanden.

Damit wurde die erfolgreiche kovalente Anbindung der Thiol-funktionalisierten RGD Moleküle mittels lichtinduzierter Thiol-in Klick Reaktion gezeigt. Die Dichte der RGD Funktionalitäten ist abhängig von dem molekularen Aufbau der Poren und könnte theoretisch durch Variation des Primär- und Sekundärlinkers im Nanometerbereich gezielt gesteuert werden. Dies ist eine wichtige Erkenntnis, da einige Studien die Abhängigkeit des Zellverhaltens von der RGD Dichte auf der Oberfläche gezeigt haben.^{147,148} In diesen Studien wird die RGD Dichte durch die Konzentration der RGD Lösung variiert, was jedoch eher zu unkontrollierten Dichteverteilungen führt.

Anschließend an die Bio-Funktionalisierung mit RGD wurden die Substrate in Kooperation mit Saskia Kraus aus der Arbeitsgruppe von Conny Lee-Thedieck für Zellkulturexperimente mit der CAL-72 Zelllinie verwendet.

Um den Einfluss der RGD-Funktionalisierung auf die Zellen zu untersuchen wurden die CAL-72 Zellen auf einer unbehandelten SURGEL Membran und einer RGD funktionalisierten SURGEL-Membran ausgesät. Die Fluoreszenzmikroskop-Aufnahmen der Zellen nach vier Stunden Inkubationszeit sind in Abb. 51 zu sehen.

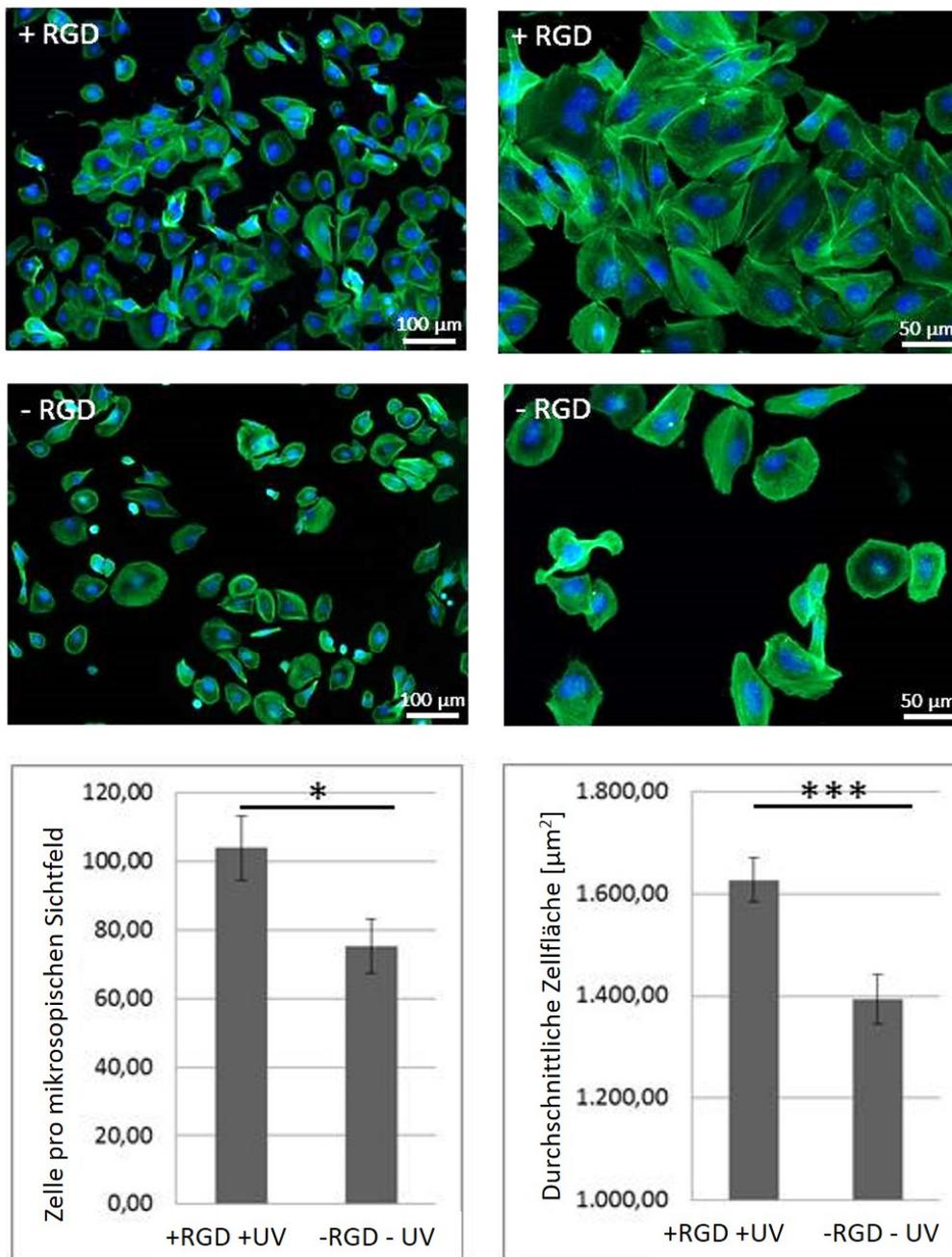


Abb. 51 Fluoreszenzmikroskopaufnahmen der CAL-72 Zellen nach 4 Stunden Inkubationszeit auf dem unbehandelten und dem RGD funktionalisierten SURGEL Substrat. Das Aktinzytoskelett ist in grün und die Kerne in blau dargestellt. Die Anzahl an angebotenen Zellen und die durchschnittliche Zellfläche wurden von 6-9 Mikroskopaufnahmen pro Substrat in vier unabhängigen Experimenten ermittelt. Die statistische Signifikanz wurde bei * auf ($p < 0.05$) und bei *** auf ($p < 0.001$) angegeben.

Nach vier Stunden Inkubationszeit wurden die Zellzahl und Ausbreitungsfläche der Zellen untersucht. Es ist zu erkennen, dass die Zellen auf der unbehandelten SURGEL Membran (gekennzeichnet mit – RGD) ein moderates Anwachsverhalten zeigen. Dies zeigt erneut die Biokompatibilität des SURGELS und das vollständige Herauslösen der Kupferionen, da hohe Konzentrationen an Cu(II)-Verbindungen den Zellstoffwechsel unterdrücken und damit giftig für Mikroorganismen sind.¹⁴⁹

Um die Auswirkungen des RGDs auf das Zellwachstums zu testen, wurden zusätzlich mit linearem RGD funktionalisierte Substrate verwendet (gekennzeichnet mit +RGD). Es ist zu erkennen, dass sowohl die Zellanzahl als auch die durchschnittliche Ausbreitungsfläche der Zellen durch die RGD-Funktionalisierung signifikant erhöht wird. Das RGD hat folglich einen positiven Einfluss auf die Haftung und Ausbreitung der Zellen.

Um zu demonstrieren, dass die RGD Peptide nicht nur lediglich auf der Oberfläche physisorbiert wurden, sondern in der UV initiierten Thiol-in Reaktion kovalent angebunden sind, wurden Kontrollexperimente vorgenommen. Das erste Experiment zeigt SURGEL Membranen, die in RGD Peptid Lösung inkubiert, aber nicht mit UV-Licht bestrahlt wurden. Die zweite Kontrolle wurde mit SURGEL Membranen durchgeführt, die in wässrigen Lösungen, ohne Anwesenheit des RGD Peptids mit UV Licht bestrahlt wurden. Damit wird ein Effekt durch eine UV-abhängige Veränderung der Oberfläche ausgeschlossen.

Wie in Abb. 52 zu erkennen, zeigen die mit RGD und UV behandelten Substrate (+RGD+UV) eine signifikant höhere Anbindungszahl und durchschnittliche Bedeckungsfläche. Die mit RGD, ohne UV behandelten Substrate hingegen (+RGD-UV) zeigen Zellzahlen und Bedeckungsflächen, die denen der unbehandelten Substrat (-RGD) entsprechen. Dies zeigt erneut die erfolgreiche Klick-Reaktion durch UV Initiierung.

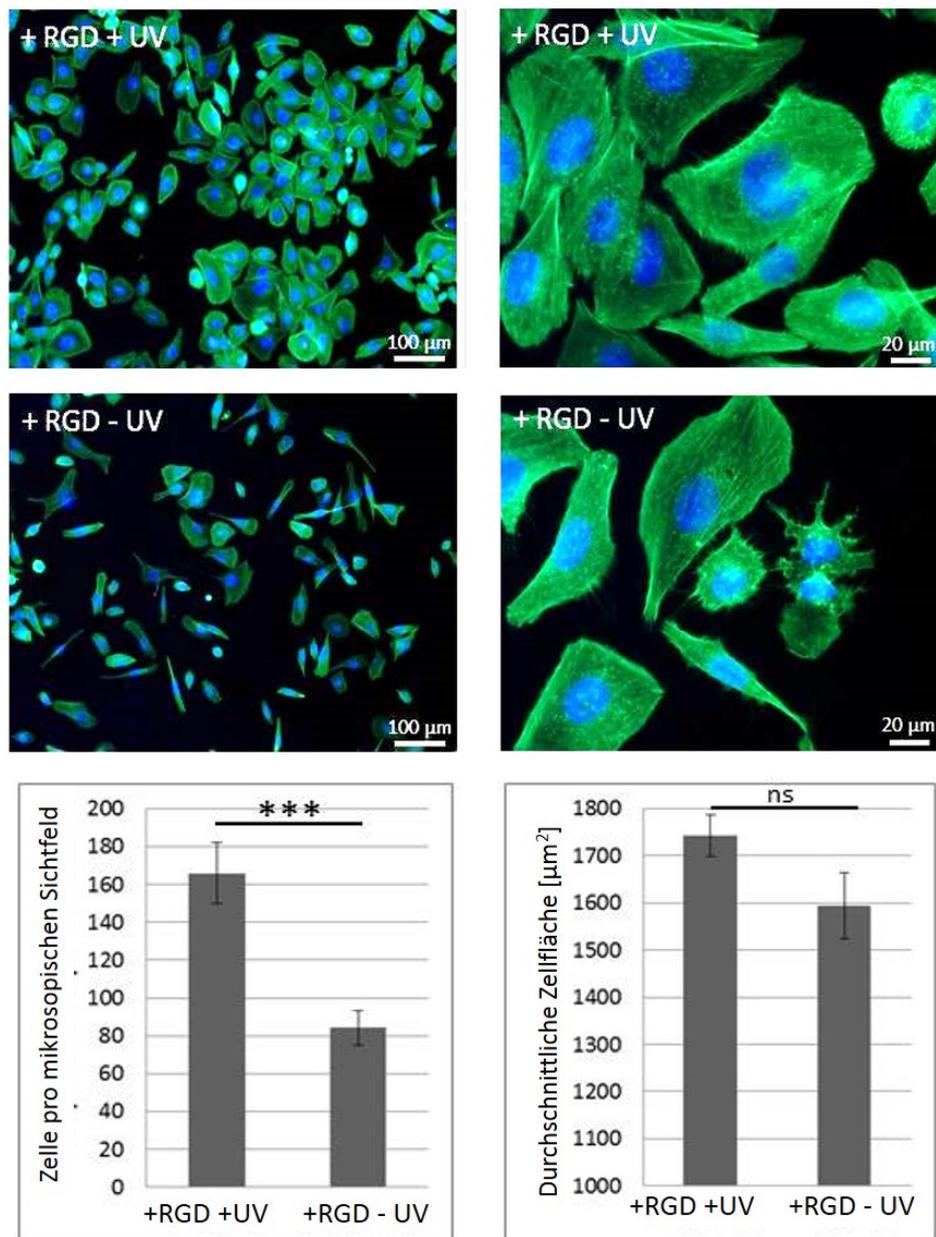


Abb. 52 Anhaftung der CAL-72 Zellen auf SURGELs, inkubiert in RGD haltigem Medium mit oder ohne Bestrahlung mit UV Licht. Das Aktin Zytoskelett ist mit Phalloidin grün eingefärbt, und der Kern wurde durch DAPI blau eingefärbt. The Auswertung der Zahl der anhaftenden Zellen und die durchschnittliche Zellfläche wurde auf 8 bis 9 Mikroskop Bildern pro Substrat in drei unabhängigen Experimenten durchgeführt. Die statistische Signifikanz wurde bei ns (nicht signifikant, $p < 0.05$) und bei *** auf ($p < 0.001$) angegeben.

4.2.4 Herstellung strukturierter RGD Substrate durch lichtinduzierte Thiol-in Klick Reaktion

Wie bereits beschrieben wurde, kann durch die UV-initiierung der Thiol-in Reaktion eine strukturierte Funktionalisierung der Oberfläche erreicht werden.¹⁵⁰ Dafür wurden die

auf Glas-Substrate übertragenen SURGEL-Membranen in Kooperation mit der Gruppe von Pavel Levkin strukturiert.

Um die strukturierte Funktionalisierung mit RGD zu untersuchen, wurde ein von Cornelia Lee-Thedieck zur Verfügung gestelltes, fluoreszent markiertes lineares RGD in wässriger Lösung verwendet und mit einer Photomaske mit einem 100 μm breiten Linienmuster bedeckt. Nach dem Bestrahlen der Probe mit UV Licht der Wellenlänge 255 nm und anschließendem gründlichem Spülen mit Wasser, wurde das SURGEL Substrat im Fluoreszenzmikroskop untersucht. Abb. 53 zeigt eine Fluoreszenzmikroskop Aufnahme der strukturiert-funktionalisierten SURGEL-Membran, das Streifenmuster der Photomaske ist gut zu erkennen. Nur die dem Licht ausgesetzten Streifen sind dem grün fluoreszierenden RGD funktionalisiert, während die abgedunkelten Streifen eine deutlich geringere Fluoreszenz aufweisen.

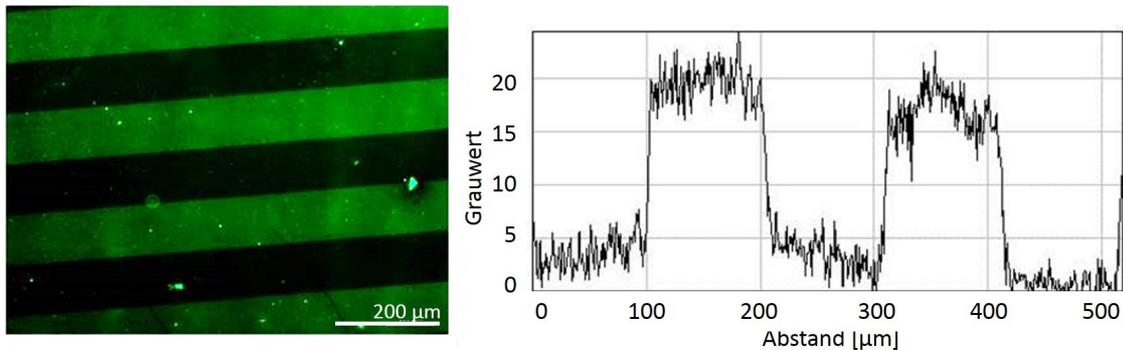


Abb. 53 Fluoreszenzmikroskop-Aufnahme des strukturierten SUREL Substrat mit einem fluoreszent-markierten RGD Peptid. Die Fluoreszenz ist nur in den Bereichen zu erkennen, an denen das UV Licht durch die Photomaske dringt. Die hier verwendete Photomaske weist 100 μm breite Streifen auf.

Zusätzlich wurden zur Charakterisierung der strukturierten Membranen ToF-SIMS Messungen durchgeführt. Dafür wurde die SURGEL Membran auf einen goldbeschichteten Silizium Wafer übertragen und anschließend mit einer Photomaske in dem weiter oben beschriebenen Verfahren mit einem 100 μm Hexagon-Muster strukturiert.

Nach gründlichem Waschen der Substrate mit Wasser wurden die Proben mittels eines bildgebenden ToF-SIMS Scans untersucht. Abb. 54 c) zeigt die zweite Hauptkomponente der positiv polarisierten ToF-SIMS Messung der strukturierten SURGEL Probe, die aus charakteristischen Aminosäure-Fragmenten, z.B. CH_4N , CH_3N_2 , $\text{C}_2\text{H}_7\text{N}_3$ berechnet wurde.¹⁵¹ Zusätzlich werden in Abb. 54 a) und b) Einzelkomponenten zweier Aminosäure-Fragmente NH_4^+ und CH_4N^+ gezeigt. Es ist zu erkennen, dass die nicht dem UV Licht ausgesetzten Sechsecke eine deutlich geringere Aminosäurekonzentration aufweisen, als die mit UV Licht beschienenen Zwischenräume.

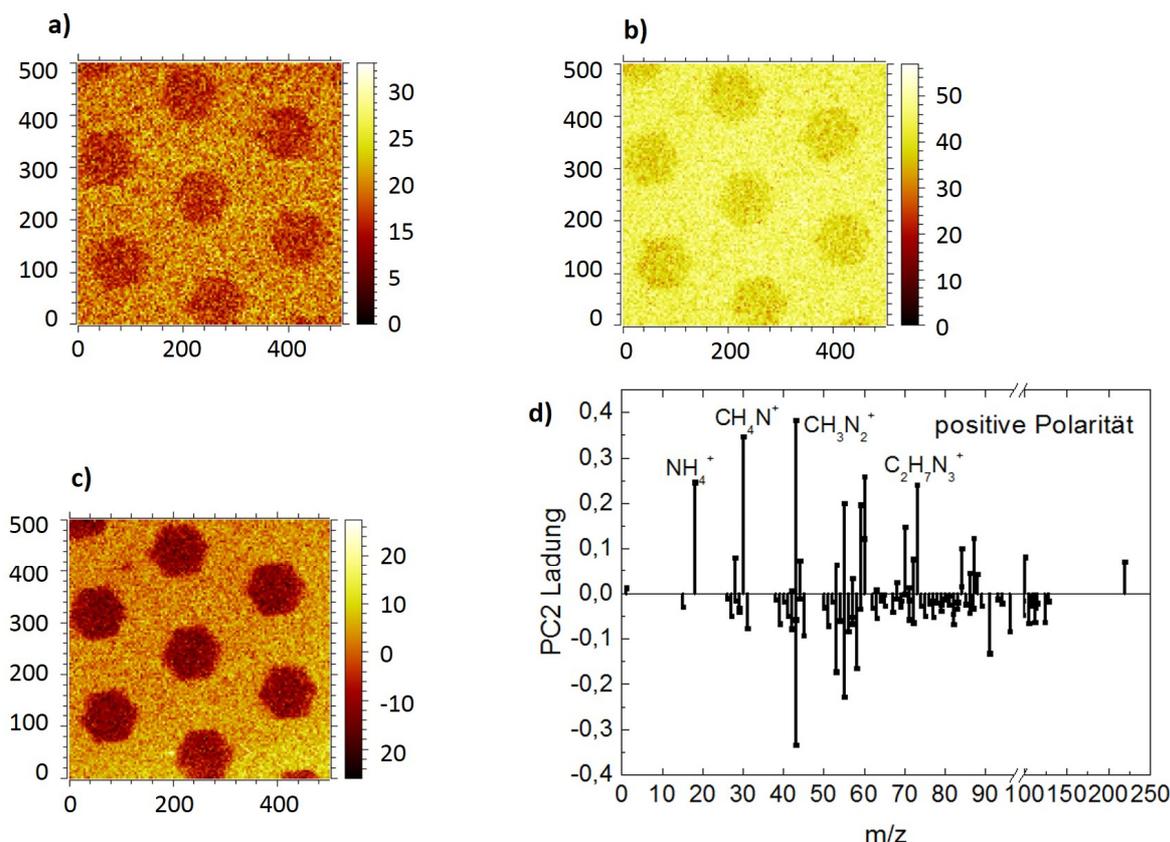


Abb. 54 Positiv polarisierte SIMS Analyse der strukturierten SURGEL Probe mit dem linearen RGD-SH. Innerhalb der Sechsecke keine UV Belichtung und damit keine Funktionalisierung des SURGELS. (a) NH_4^+ (18.03 m/z), (b) CH_4N^+ (30.03 m/z), (c) Zweite Hauptkomponente der positiv polarisierten Aminosäurefragmente. (d) PC2 Ladungen der positiv polarisierten Aminosäurefragmente, einige charakteristische Aminosäure (Glycin und Arginin) sind benannt.

Damit konnte die erfolgreiche strukturierte Oberflächenfunktionalisierung der SURGEL Substrate gezeigt werden. Die strukturierten Substrate sollen nun für Zellkultur Experimente verwendet werden. Dafür werden die, auf ein Deckglas übertragenen SURGEL-Membranen mit dem linearen, fluoreszent markierten RGD-SH strukturiert. Für die Strukturierung wird eine Photomaske mit 100 μm breiten Streifen verwendet.

Anschließend wurden die CAL-72 Zellen auf dem Substrat ausgesät und nach einer Inkubationszeit von 4 h mit dem Fluoreszenzmikroskop untersucht.

In den vorherigen Zell-Experimenten wurde gezeigt, dass die Zellen auf der nicht funktionalisierten SURGEL Membran ein relativ gutes Wachstumsverhalten zeigen, dieses konnte durch die Funktionalisierung mit dem linearen RGD-SH, wie auf der statistischen Auswertung in Abb. 52 gezeigt, etwa um einen Faktor zwei verbessert werden. Somit ist das Ergebnis der Zellkultivierung auf dem strukturierten Substrat zu erwarten, dass in Abb. 55 gezeigt wird.

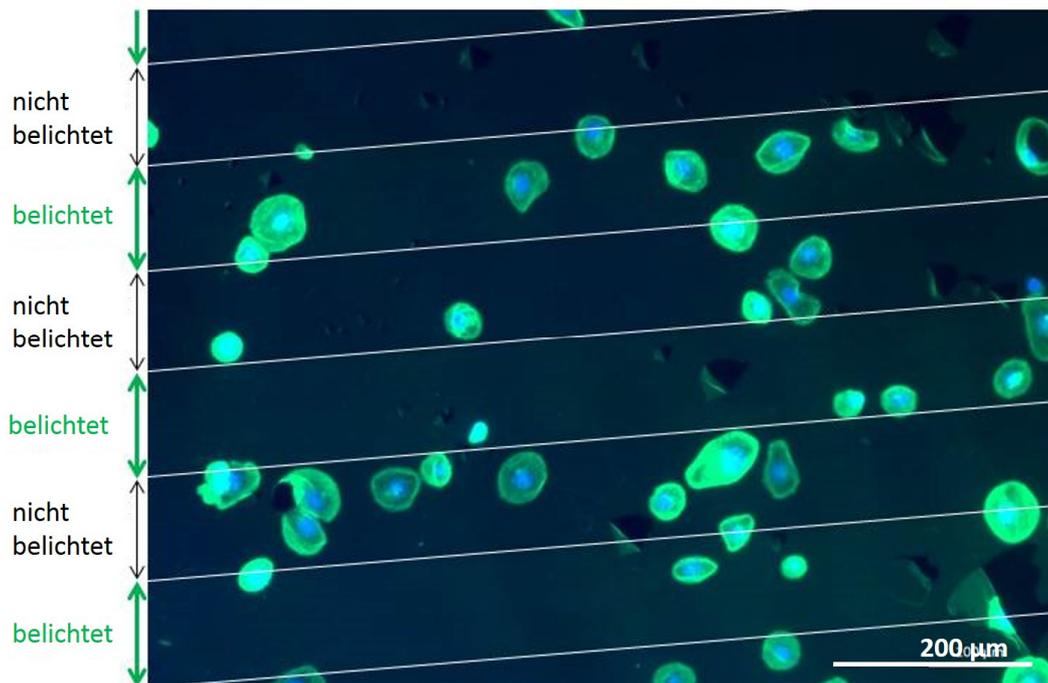


Abb. 55 Fluoreszenzmikroskop Aufnahme der CAL-72 Zellen auf einem mit fluoreszenzmarkierten RGD strukturierten SURGEL Substrat. Die Grenzen zwischen den belichteten und nicht belichteten Streifen sind mit weißen Linien angedeutet. Die grünen Pfeile markieren die belichteten Streifen, die schwarzen Streifen hingegen die nicht belichteten Bereiche. Das fluoreszenzmarkierte RGD kann mit schwacher Intensität als Hintergrundfluoreszenz wahrgenommen werden. Das Zell-Cytoskelett wurde mit Phalloidin grün angefärbt, die Kerne mit DAPI in blau.

Anders als ursprünglich erwartet, siedeln die CAL-72 Zellen nicht ausschließlich auf den mit RGD funktionalisierten Bereichen an, sondern verteilen sich relativ gleichmäßig auf dem gesamten SURGEL Substrat. Dies stimmt mit den in Abb. 51 dargestellten Ergebnissen überein, das Verhältnis von Zellen pro mikroskopischen Sichtfeld des unfunktionalisierten und des RGD-funktionalisierten Substrats liegt etwa bei 7 zu 10. Dabei ist bereits eine deutliche Verbesserung des Zellwachstums auf dem RGD-funktionalisierten Substrat gezeigt, diese ist aber auf dem unbehandelten SURGEL auch schon recht gut. Der Effekt auf strukturierten Substraten kann vermutlich mit einer höheren RGD Dichte verstärkt werden.

Mithilfe der in den QCM Messungen gewonnen Erkenntnissen, ist ersichtlich das die RGD Dichte von dem molekularen Aufbau des SURMOFs abhängig ist. Der dichteabhängige Effekt des RGDs auf die Zellen wurde bereits erwähnt, daher ist davon auszugehen, dass eine höhere Funktionalisierungsdichte mit RGD den Effekt der Zellanbindung weiter verstärkt und somit eine entsprechende Migration der Zellen zu den funktionalisierten Bereichen des SURGELS hervorrufen kann.

Um eine höhere RGD Dichte zu erreichen, könnte zum Beispiel ein MOF mit einer kleineren Porengröße gewählt werden, oder ein Sekundärlinker mit vier anstatt der hier verwendeten drei funktionellen Gruppen.

Das in Kapitel 4.3 vorgestellte, durch Thiol-en Klick-Reaktion vorgestellte Verfahren zur SURGEL Herstellung weißt beide dieser oben genannten Ansätze auf und könnte für eine Strukturierung untersucht werden.

4.2.5 Oligoethylenglykol (OEG) funktionalisierte SURGEL Substrate

Wie in den vorherigen Kapiteln gezeigt werden konnte, kann die SURGEL-Oberfläche mithilfe des Adhäsionsproteins RGD für Zellen attraktiver gestaltet werden. Um das Prinzip der Oberflächenfunktionalisierung weiter zu untersuchen, wurde das SURGEL neben RGD auch mit Oligoethylenglykolen (OEG) funktionalisiert. Oligoethylenglykole und Polyethylenglykole (PEG) sind lineare Ketten des Monomers $(-O-CH_2-CH_2-)_n$. Langkettige Polyethylenglykole sind Feststoffe, die in als Tablettenform in der pharmazeutischen Wirkstoffgabe oder mit etwas kürzeren Kettenlängen als Salbengrundlage und Cremes verwendet werden. Die proteinresistenten Eigenschaften dieser Polymeren PEGs sind schon lange bekannt und werden mit dem Effekt der „sterischen Abstoßung“ erklärt. Damit wird ein entropischer Effekt beschrieben, der mit der Verdrängung von Wasser an der Polymeroberfläche und der Einschränkung der Beweglichkeit der endständigen Seitenketten zusammenhängt.¹⁵²

Um die genaueren Mechanismus zu verstehen, wurden von der Gruppe um Withesides Studien mit kurzgekettigen Thiol-OEG SAMs beschichtet Oberflächen durchgeführt.^{45,125} Im Unterschied zum Polymer weisen diese SAMs einheitliche Kettenlängen und eine definierte Substrat-Wasser Oberfläche auf. Trotz der eingeschränkten Beweglichkeit der Kettenenden weisen diese SAMs eine erstaunlich gute Proteinresistenz auf, der Effekt kann also nicht ausschließlich durch sterische Repulsion getrieben sein. Um dies zu untersuchen, müssen die vielfältigen Wechselwirkungen zwischen Protein und Oberfläche beachtet werden.

Diese unterteilen sich in schwache Wechselwirkungen, wie Dipolwechselwirkungen, ionische Wechselwirkungen, die von geladenen Aminosäuregruppen verursacht werden und schließlich in hydrophobe Wechselwirkungen, die die stärkste Triebkraft zur Proteinadsorption ausmachen. Diese kommen durch hydrophobe Seitenketten des Proteins zustande.¹⁵³ Wird das Protein an einer Oberfläche adsorbiert, ändert sich oft dessen Konformation, so dass hydrophobe Ketten an die Oberfläche anlagern und so die Grenzfläche dieser hydrophoben Teile mit dem Wasser minimieren. Dieser Energiegewinn ist bei einer rein hydrophilen PEG-Oberfläche nicht mehr vorhanden, da die Anlagerung an

die hydrophile Oberfläche keinen entropischen Vorteil einbringt. Der genaue Mechanismus der Proteinresistenz hydrophiler SAMs ist trotz vielfältiger Arbeiten von vor allem den Gruppen um Whitesides und Grunze noch nicht bekannt.^{125,154} Allerdings wurden aufgrund dieser Arbeiten einige Regeln zur Proteinresistenz aufgestellt. Zum einen muss das Innere des SAMs hydrophil sein, das Minimum zu einem proteinresistenten Verhalten von SAMs sind zwei Ethylenglykol-Einheiten, je mehr Einheiten desto besser der Effekt. Zum anderen Verstärken kleinere Defekte den Effekt, da Wasser in den SAM eindringen kann, dichtere, fast defektfrei gepackte SAMs haben einen schwächeren proteophoben Effekt.

Alternative proteinresistente Oberflächen konnten von Rolf Chelmowski hergestellt werden, der aufgrund der oben benannten Erkenntnisse eine Reihe von hydrophilen Aminosäure-SAMs herstellen konnte, die ebenfalls den gewünschten proteophoben Effekt aufweisen.^{155,156}

Die Funktionalisierung der SURGELe bietet nun die Möglichkeit die durch die Thiol-SAMs gewonnenen Erkenntnisse auf ein neues Material anzuwenden. Durch das Anbinden der Thiole an die noch im SURGEL vorhandenen Alkin-Gruppen des Sekundärlinkers mittels der Thiol-in Klick-Reaktion, können organischen Thiole als geordnete Monolage an die SURGEL-Oberfläche gebunden werden (siehe Abb. 56).

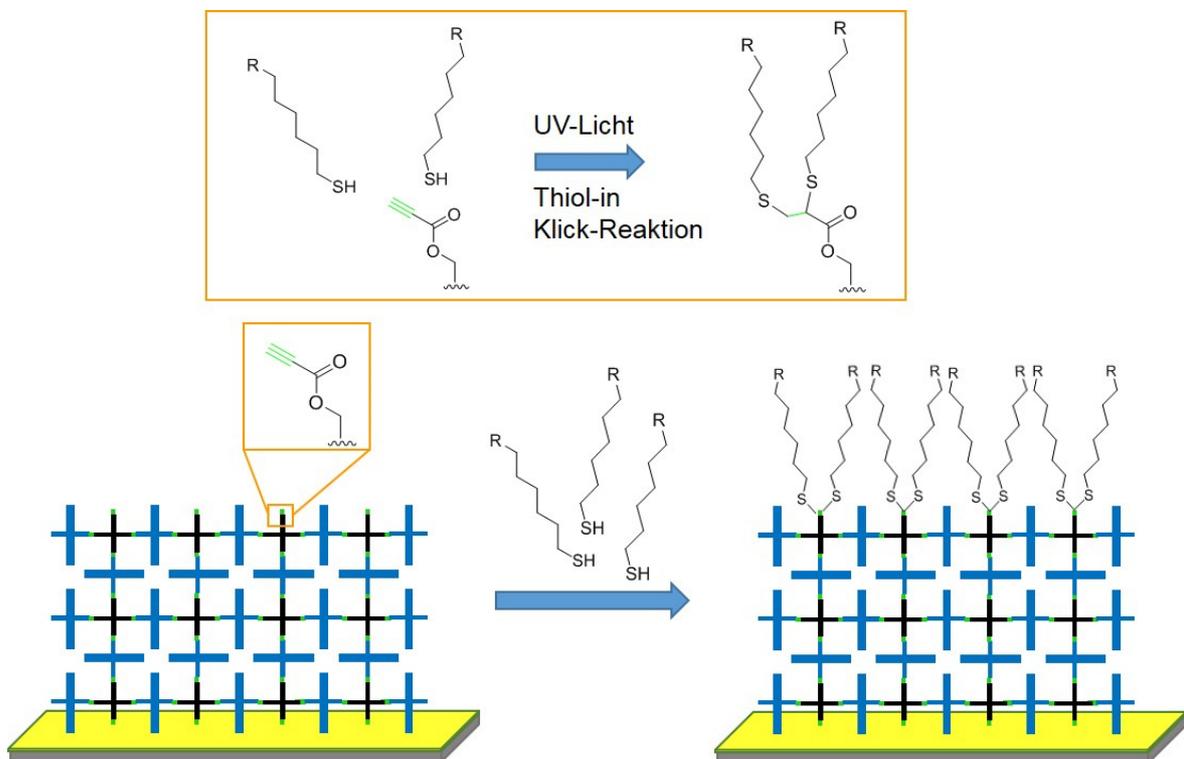


Abb. 56 Postsynthetische Funktionalisierung der SURGEL Oberfläche mit organischen Thiol-Molekülen mittels UV-Licht induzierter Thiol-in Klick-Chemie. Die Thiole ordnen sich in einer geordneten Monolage an die SURGEL Oberfläche.

Durch eine Kombination der porösen, biokompatiblen SURGELs mit der umfangreichen Chemie der Thiol-SAMs^{45,157,158} kann nun ein ganz neues Feld von Biomaterialien erschlossen werden. Wobei die molekulare Strukturierung und Einlagerung von bioaktiven Stoffen genauso möglich ist, wie eine individuelle und strukturierte Oberflächenfunktionalisierung.

Dieser gedankliche Ansatz soll nun anhand zweier bekannter und gut untersuchter Thiol-SAMs getestet werden. Zum einen dem (11-Mercaptoundecyl)hexa(ethylenglykol) (OEG-6) SAM, dessen hydrophile und somit proteinabweisenden Eigenschaften ausführlich beschrieben wurden und zum anderen mit 1-Oktadecanthiol (C18).¹²⁵ Der C18 SAM exponiert eine sehr hydrophobe Oberfläche und führt zu einer hohen Proteinadsorption an der Oberfläche.

Um die Proteinadsorption auf den Oberflächen zu untersuchen, wurde die Methode der Oberflächenplasmonenresonanz – Spektroskopie verwendet. Mit dieser Methode kann die Anbindung von Biomolekülen auf der Oberfläche ohne die Verwendung von Marker-Molekülen in Realzeit nachverfolgt werden (siehe Kapitel 2.3).

Für die Untersuchungen der Proteinadsorption an den verschiedenen Oberflächen wurde Rinder Serum Albumin (bovin serum albumin, BSA) verwendet. Dabei handelt es sich um ein im Blutplasma vorkommendes, globuläres Protein mit einem Molekulargewicht von 67 kDa. Die Funktion von BSA liegt in der pH-Regulierung des Blutes und im Transport von lipophilen Bestandteilen.

Als erstes Kontrollexperiment wurde ein spezielles SPR Substrat (1 mm starkes, mit 50 nm Gold beschichtetes Glassubstrate mit einer Größe von 11x11 mm) mit einem C18 SAM beschichtet und in die SPR-Apparatur eingespannt. Nachdem durch Spülen des Substrats mit wässriger PBS (aus dem Englischen, phosphate buffered saline) Lösung eine stabile Basislinie erreicht wurde, wurde eine Rinderserum Albumin Lösung in wässriger PBS Lösung mit einer Konzentration von 10 µg/ml über die Substrate geleitet. Die Masse der adsorbierten Proteine auf der Oberfläche wurde *in-situ* durch die Verschiebung des Plasmonenresonanzminimums gemessen. Die Ergebnisse der BSA Adsorption an dem C18 SAM sind in Abb. 57 (a) dargestellt. Es ist zu erkennen, dass bei Kontakt mit der BSA Lösung ein sofortiger Anstieg der Masse zu erkennen ist, nach anschließendem Spülen mit PBS Lösung ist eine Beladung von etwa 113 ng/cm² zu beobachten. Diese Werte liegen in der gleichen Größenordnung wie die literaturbekannten Werte.¹⁵⁶

Anschließend wurde ein C-18 funktionalisiertes SURGEL Substrat getestet, dafür wurde das SPR-Substrat vollständig mit einer SURMOF Membran bedeckt, die mit dem in Kapitel 3.7 beschriebenen Verfahren auf das Glassubstrat übertragen wurde. Anschließend wurde die SURGEL Oberfläche wie in Kapitel 3.8.2 im Detail erläutert mit C18 funktionalisiert und die Proteinadsorption gemessen. Die Ergebnisse der BSA Adsorption an dem C-18 funktionalisierten SURGEL Substrat sind in Abb. 57 (b) dargestellt.

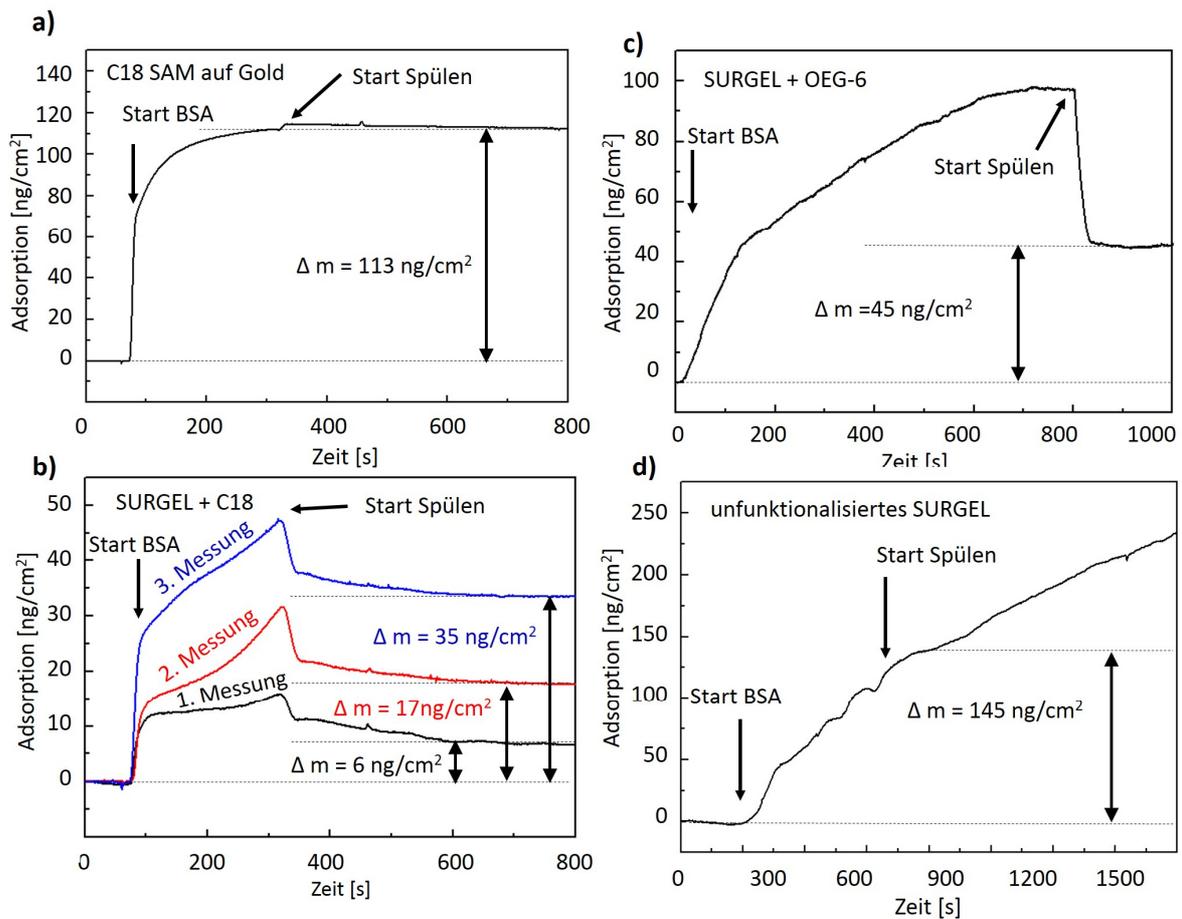


Abb. 57 Untersuchung der Proteinadsorption von BSA an verschiedene funktionalisierte Oberflächen mittels SPR-Spektroskopie. (a) Adsorption an eine mit dem C18-SAM beschichtete Gold Oberfläche. (b) Adsorption an ein mit dem C18-SAM funktionalisiertes SURGEL, die Messung wurde am gleichen Substrat dreimal im Abstand von einer Stunde wiederholt, 1. Messung (schwarz), 2. Messung nach einer Stunde (rot), 3. Messung nach zwei Stunden (blau). (c) Adsorption an eine OEG-6 funktionalisierte SURGEL Oberfläche. (d) Adsorption an eine unfunktionalisierte SURGEL Oberfläche.

Die Messung auf dem C18 funktionalisierten SURGEL wurde dreimal nach einer Wartezeit von je einer Stunde wiederholt. Wie in Abb. 57 (b) zu erkennen ist die BSA-Adsorption auf dem SURGEL deutlich geringer als auf dem C18 SAM. Ebenfalls, was anhand erster Überlegungen noch erstaunlicher ist, ist die Adsorption geringer als auf dem reinen nicht-funktionalisierten SURGEL (siehe Abb. 57 (d)). Unter der Annahme, dass die Massenzunahme von 6 ng/cm² für die erste Messung auswertbar ist, sind hierfür verschiedene Gründe denkbar. Erstens ist die SPR Spektroskopie sehr oberflächensensitiv, die Intensität nimmt exponentiell mit dem Abstand zur Oberfläche ab, daher können zwei unterschiedlich dicke SURGEL Membranen unterschiedliche Ergebnisse hervorrufen. Zweitens ist denkbar, dass die Messung des reinen SURGELS nicht ausschließlich die Adsorption von BSA zeigt, sondern dass zusätzlich die Salze des PBS Puffers in das SURGEL

diffundieren und ein Quellen des Gels induzieren. Diese Theorie wird dadurch unterlegt, dass auch nach Stoppen der BSA Lösung und Spülen mit PBS ein weiterer Massenanstieg zu erkennen ist. Der Effekt scheint bei den funktionalisierten SURGEL Membranen nicht gegeben zu sein, da wohl durch die Bildung der hydrophoben Monolagen (auch die untere Schicht der OEGs ist hydrophob) ein Eindiffundieren des wässrigen Puffers unterdrückt wird.

Die in Abb. 57 (c) gezeigten Kurven der Proteinadsorption an einem OEG-6 funktionalisierten SURGEL Substrat zeigt einen Massenanstieg von 45 ng/cm^2 . Die Adsorptionsrate liegt etwas höher als die von Whitesides publizierte Daten für die mit OEG-6 SAM beschichteten Gold Substrate¹²⁵ und sogar höher als die C-18 funktionalisierten SURGELe.

Dass die OEG-SURGEL Oberfläche nicht die Proteinresistenz der OEG-SAMs erreicht, kann an verschiedenen Gründen liegen und muss noch weiter untersucht werden. Erstens liegt die Funktionalisierungsdichte, wie schon in Kapitel 4.2.3 gezeigt, durch die Anbindung an die endständigen Alkin-Gruppen des Sekundärlinkers bei etwa $0.3 \text{ Molekülen pro nm}^2$, womit diese deutlich geringer ist als auf einer SAM-Oberfläche. Diese geringere Dichte soll in weiterführenden Arbeiten durch längere PEG-Einheiten ausgeglichen werden, wobei in der Literatur PEGs mit einer Mindestmasse von 2000 g/mol oder 45 Ethylenglykol Einheiten vorgeschlagen werden.¹⁵⁹

Zusätzlich kann wiederum die SURGEL Schichtdicke eine Rolle spielen, da die SPR Spektroskopie eine sehr oberflächensensitive Methode ist und nur für Schichtdicken bis maximal $50 - 100 \text{ nm}$ exakte Ergebnisse liefert. Eventuelle Dickenunterschiede im SURGEL Film können das Messergebnis stark beeinflussen, daher ist auf eine exakte Homogenität des Films zu achten.

In Anbetracht all dieser Faktoren kann gesagt werden, dass die Anbindung von SAMs auf SURGEL Filme ein sehr komplexes System ist, bei dem viele Einflüsse abzuwägen sind. Erstens muss das Eindiffundieren des Puffers in das SURGEL genauer untersucht werden, die Funktionalisierungsdichte und Länge der SAMs spielen ebenso eine Rolle. Zum anderen müssen für aussagekräftige Werte andere Methoden, wie beispielsweise QCM Experimenten durchgeführt werden, um das Ergebnis zusätzlich unabhängig von der Filmdicke zu bestätigen.

Trotz der Notwendigkeit zu weiteren Untersuchungen konnte eindeutig gezeigt werden, dass die Funktionalisierung der SURGELe mit Thiol-SAMs erfolgreich durchgeführt werden konnte. Die Funktionalisierung hat durchaus Einfluss auf die Proteinresistenz der SURGEL Oberflächen, wenn auch nicht in dem von herkömmlichen SAMs auf Gold bekannten Maße. Da die Untersuchungen zu Funktionalisierung der SURGELe mit SAMs noch ganz am Anfang stehen, sind weiter Untersuchungen zum besseren Verständnis dieses komplexen Systems notwendig.

4.2.6 Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass SURGEL-Membranen als Zellkultursubstrate für verschiedene, knochenbildende Zelltypen geeignet sind. Sowohl für MSCs als auch für die CAL-72 Zelllinie wurden Toxizitätsstudien durchgeführt, die zeigen dass die SURGEL Konvertierung vollständig verläuft, so dass die Kupferionen Konzentration unbedenklich für das Zellwachstum ist. Dieses Ergebnis ist sehr vielversprechend hinsichtlich einer Verwendung der SURGELe als Biomaterial.

Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Alkin-Gruppen des Sekundärlinkers dazu genutzt werden können, um eine postsynthetische Oberflächenfunktionalisierung des SURGELs mittels Thiol-in Klick Reaktion durchzuführen. Bei dem hier gewählten Biomolekül handelt es sich um die Aminosäuresequenz RGD (Arg-Gly-Asp), die aus einigen Proteinen der extrazellulären Matrix bekannt ist und für die Ankopplung der Zellen an die ECM verantwortlich ist. Mit dieser Funktionalisierung konnte die Anbindung der CAL-72 Zellen an das SURGEL verbessert werden.

Anschließend wurden die Vorteile der UV-initiierten Thiol-in Klick Reaktion genutzt, um eine strukturierte Funktionalisierung der Oberfläche zu erreichen. Mittels einer Photomaske wurde das Biomolekül in einem durch die Photomaske vorgegebenen Muster auf die Oberfläche aufgebracht.

Zusammen mit den Ergebnissen zur Funktionalisierung der SURGELe mit den proteinabweisenden OEG-Einheiten konnte gezeigt werden, dass die biologischen Bedingungen der SURGEL Oberfläche postsynthetisch beeinflusst werden können.

4.3 Molekulare Strukturierung und Variabilität von SURGEL

4.3.1 Einleitung

In den zwei vorherigen Kapiteln konnte bereits die Eignung des SURGEL-Materialtyps für die biologische Anwendung nachgewiesen werden. Da Zellen, wie in Kapitel 1.4.2 diskutiert, sehr sensibel auf die mechanischen und strukturellen Eigenschaften des Biomaterials reagieren, ist es wichtig für die biologische Anwendung eine breite Variation an Materialien anbieten und testen zu können. Durch die Verwendung von MOFs als Templat-Strukturen für die anschließende Konvertierung zu den porösen, polymeren und biokompatiblen Gelen, können alle Vorteile der SURMOF Materialien für die Gele genutzt werden. Die bekanntesten und in der Einleitung ausführlich diskutierten Vorteile dieser Materialklasse liegen in derer großer struktureller Vielfalt, der permanenten Porosität und der einstellbaren Porengröße und Poreneigenschaften. Die Möglichkeit, verschiedene funktionelle Gruppen durch die organischen Liganden in das Gerüst einzubringen, bietet zudem eine große Variabilität an chemischen Modifikationen. In diesem Kapitel soll gezeigt werden, dass die SURGEL Herstellung nicht auf den schon bekannten Ansatz der von Manuel Tsotsalas beschriebenen Azid/Alkin Klick-Reaktion beschränkt ist sondern vielseitig anwendbar. Alle Klick-Reaktionen sind der Definition nach Reaktionen mit einer hohen Ausbeute, wenig Nebenprodukten und einfacher Durchführung.¹⁶⁰ Die in diesem Kapitel diskutierte Thiol-en Klick-Reaktion, bei der ein Alken und ein Thiol in einer UV initiierten radikalischen Addition zu einem Thioether reagieren, bietet des Weiteren sehr attraktive Vorteile.^{161,162} Neben den katalysator- und lösungsmittelunabhängigen Reaktionsbedingungen, bietet die Licht-induzierte Reaktion eine einfache Möglichkeit zur lokalisierten Gel-Konvertierung und somit zur Herstellung strukturierter SURGEL Substrate. Dieser Ansatz ist für die biologische Anwendung sehr attraktiv, da nicht nur die Funktionalisierung der Oberfläche, sondern auch die Oberflächentopologie einen Einfluss auf anwachsende Zellen ausübt. Für die Gel Konvertierung mittels Thiol-en Reaktion wurde der Alken-funktionalisierte Bis(allyloxy)-benzoldicarbonsäure (BA-BDC) Linker gewählt und anschließend in einer Thiol-en Klick Reaktion mit multifunktionellen Thiol-Sekundärlinkern vernetzt (siehe Abb. 58).

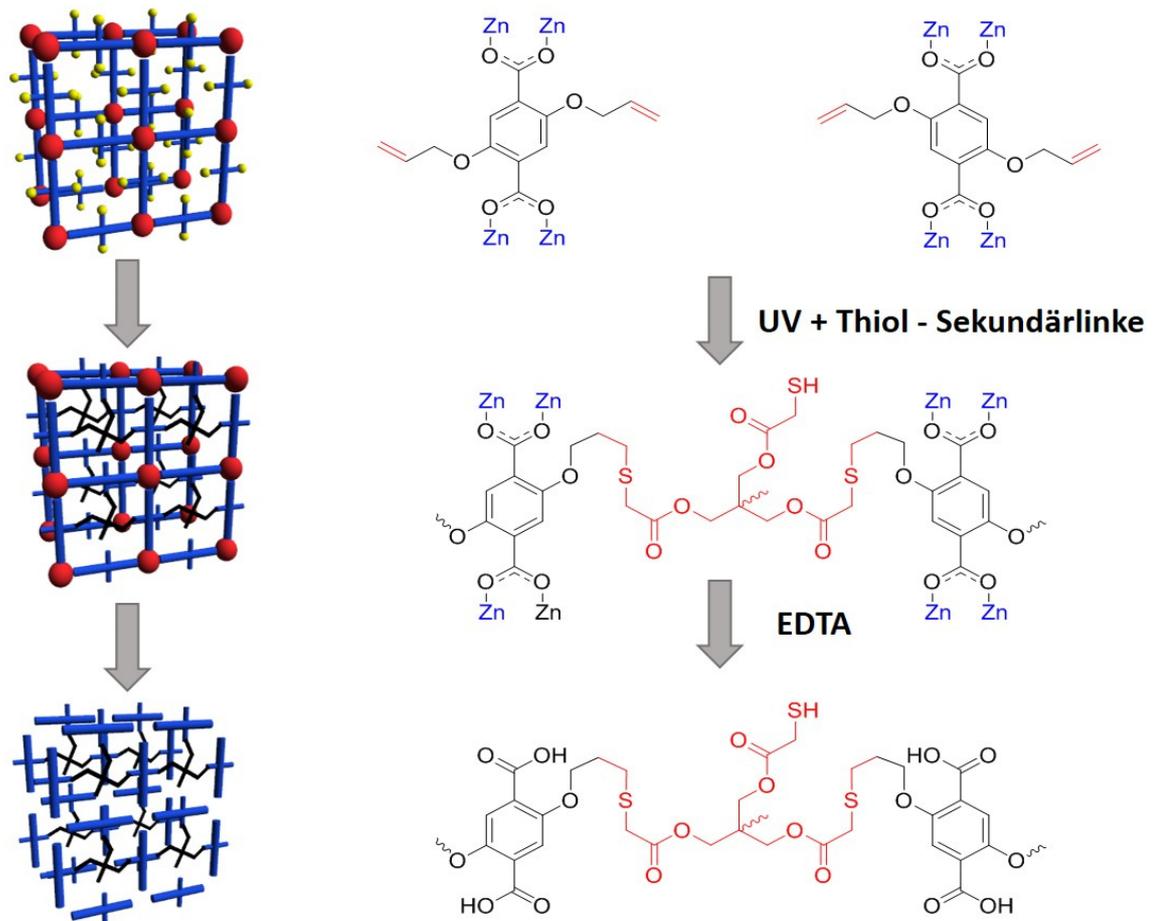


Abb. 58 Darstellung der Gel-Konvertierung des [Zn(BA-BDC)] MOFs mittels Quervernetzung von multifunktionalen Thiolen in einer UV initiierten Thiol-en Klick Reaktion. Im zweiten Schritt werden die Zn-Ionen mit EDTA aus Gerüst herausgelöst, was zu einem porösen, polymeren Gel führt.

Die Einführung einer neuen Art von Chemie und die Verwendung unterschiedlicher Quervernetzungsmoleküle zeigt nicht nur die strukturelle Vielfalt der SURGEL Systeme sondern bietet auch im Hinblick auf die Verwendung in biologischer Anwendung einige interessante Aspekte.

Erstens führt die Verwendung von kürzeren Linkern zu einem dichteren Netzwerk und damit zu veränderten mechanischen Eigenschaften des SURGELS. Gleichzeitig wird damit die Dichte der Ankergruppen für eine postsynthetische Funktionalisierung erhöht. Zweitens wird durch die Verwendung unterschiedlicher Sekundärlinker die mechanischen und chemischen Eigenschaften des Gels verändert.

Die Quervernetzung durch Thiol-en Klick Reaktion wurde zuerst an Einkristallen demonstriert und anschließend auf SURMOF Substrate übertragen. Die Verwendung von MOF Einkristallen erlaubte die Synthese und vollständige Charakterisierung der

Quervernetzungsreaktion und Gelumwandlung der Einkristalle um sie anschließend mit den Eigenschaften der SURGELe vergleichen zu können.

4.3.2 Thiol-en Klick Reaktion zur Quervernetzung von [Zn(BA-BDC)] Einkristallen

4.3.2.1 [Zn(BA-BDC)] und [Cu(BA-BDC)] Einkristall Synthese

Als Templat MOF-Struktur zur Herstellung der Thiol-en quervernetzten GELe wurde ein von Fischer et al. vorgestellter, alken-funktionalisierter Zn MOF verwendet.¹¹⁹ Dafür wurde der Alken-funktionalisierte Bis(allyloxy)-benzoldicarbonsäure (BA-BDC) Linker mit Kupfer, bzw. Zinknitraten zu dem [M(BA-BDC)] MOF umgesetzt. Für die Synthese der [M(BA-BDC)] Einkristalle, wurde der zuvor frisch synthetisierte BA-BDC Linker in DMF mit den jeweiligen Zn, bzw. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ in einer solvothermalen Reaktion umgesetzt. Das [Zn(BA-BDC)] kristallisiert, wie in Abb. 59 c) gezeigt in einer IRMOF analoge, dreidimensionale MOF-5 Strukturen aus. Die $\text{Zn}_4(\text{O})(\text{CO}_2)_6$ SBU wird dabei aus einem tetragonalen Zink Clustern gebildet, der von einem zentralen Sauerstoffatom und sechs über die Kanten verbrückten Carboxylgruppen koordiniert wird.¹⁶³ Der [Cu(BA-BDC)] MOF hingegen bildet eine dem MOF-2 analoge zweidimensionale Schichtstruktur aus (siehe Abb. 59 b)), wobei die $\text{Cu}_2(\text{CO}_2)_4$ SBU die bereits erläuterte Paddle Wheel Struktur einnimmt. Die genaue Beschreibung der Linker- bzw. MOF-Synthese ist in Kapitel 3.3 bzw. 3.4.3 erläutert. Es konnten Einkristallröntgenstrukturanalysen für sowohl [Zn(BA-BDC)] als auch [Cu(BA-BDC)] durchgeführt werden. Die Qualität der Einkristalle war nicht für eine komplette Strukturanalyse ausreichend, allerdings ist der Aufbau der Verbindungen, wie in Abb. 59 dargestellt, deutlich zu erkennen.

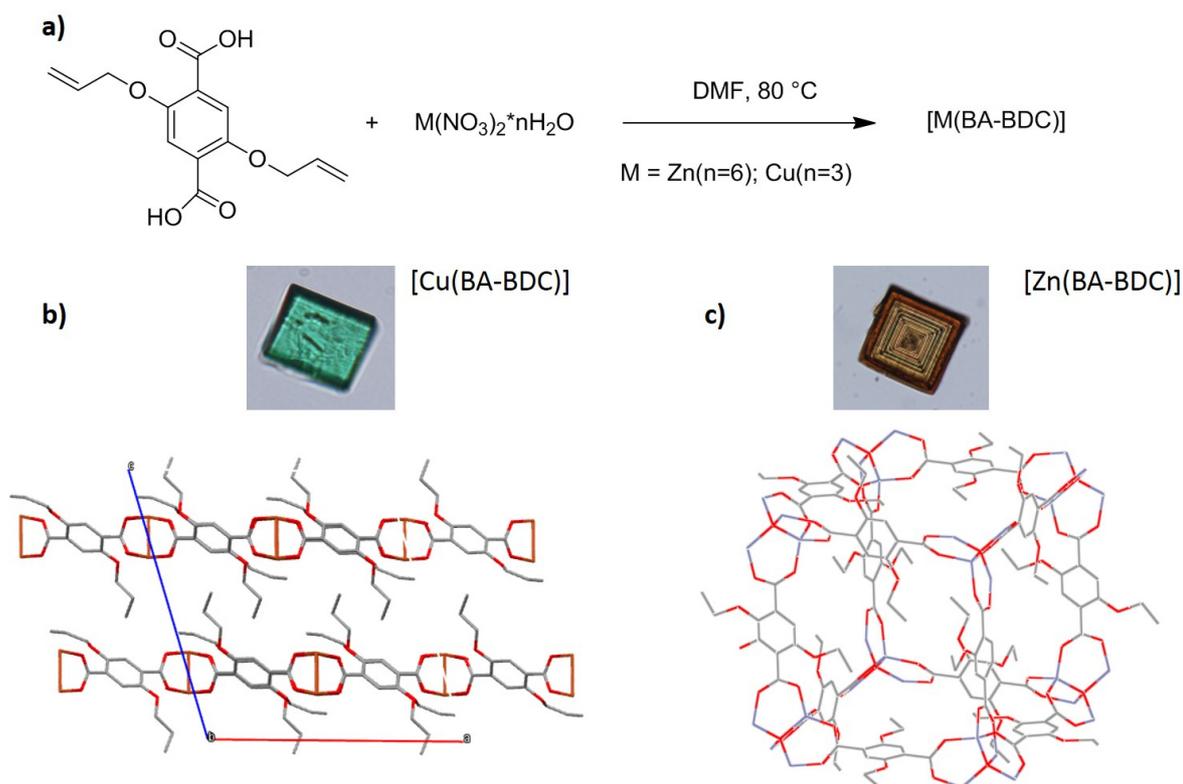


Abb. 59 (a) Reaktionsschema der $[\text{M}(\text{BA-BDC})]$ Synthese. (b+c) Einkristallröntgenstrukturen für $[\text{Cu}(\text{BA-BDC})]$ (b) und $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ (c), während $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ in einer IRMOF analogen Struktur kristallisiert, nimmt $[\text{Cu}(\text{BA-BDC})]$ die zweidimensionale Schichtstruktur des MOF-5 ein.

4.3.2.2 Gel Konvertierung des $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ *via* Thiol-en Klick Reaktion

Nach der vollständigen Charakterisierung beider Systeme durch Einkristall- bzw. Pulver-Röntgendiffraktometrie (PXRD aus dem englischen Powder X-Ray Diffraction) und Infrarot Spektroskopie, wurden die Kristalle der Gel-Konvertierung unterzogen. Dafür wurden die Kristalle mit Toluol gewaschen, für einige Stunden in eine 10 $\mu\text{l}/\text{ml}$ Toluol – Tetrathiol (PETMA, **14**) Lösung eingelegt und anschließend für 1 Stunde mit 365 nm UV Licht beschienen. Nach dem vollständigen Quervernetzen der Kristalle, wurden diese in eine wässrige EDTA Lösung eingelegt um die Metallionen aus dem Gitter herauszulösen.

Die $[\text{Cu}(\text{BA-BDC})]$ Kristalle zeigen eine sehr schlechte Stabilität in der Thiol-Lösung, Kupferionen haben eine sehr starke Affinität zu Thiolen und werden durch die chelatischen Thiol-Verbindungen komplexiert und aus dem Gerüst herausgelöst. Dies hat eine sofortige Verfärbung der grünen $[\text{Cu}(\text{BA-BDC})]$ Kristalle ins gelbe zur Folge. $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ hingegen zeigt eine gute Stabilität, daher beschränken sich die folgenden Auswertungen auf die Zinkverbindungen. Wie in Abb. 60 zu sehen, kann die erfolgreiche Reaktion mit XRD, IR und Thermogravimetrie (TG) nachverfolgt werden. Das Infrarot-Spektrum zeigt die charakteristische Thiol Bande des PETMA bei 2556 cm^{-1} , die Alken-Gruppe des BA-BDC im

[Zn(BA-BDC)] MOF ist bei 3080 cm^{-1} zu erkennen. Nach der Quervernetzungsreaktion des MOF (rot) kann eine deutliche Abnahme beider Peaks beobachtet werden, was bereits auf eine erfolgreiche Reaktion hindeutet, gleichzeitig ist im nun quervernetzten MOF auch nach gründlichem Waschen die charakteristischen $-\text{CH}_2$ Schwingung des PETMA bei 2931 cm^{-1} (asymmetrische Streckschwingung) und 2865 cm^{-1} (symmetrische Streckschwingung) zu erkennen. Das Röntgen-Diffraktogramm des quervernetzten [Zn(BA-BDC)] mit dem Tetrathiol-Sekundärlinker zeigt alle charakteristischen Peaks des unbehandelten [Zn(BA-BDC)], wodurch bestätigt wird, dass die Grundstruktur des MOFs intakt bleibt. Zusätzlich zum unbehandelten [Zn(BA-BDC)] erscheint ein neuer Peak bei 5.84° , der keinem der eingesetzten Moleküle zugeordnet werden kann und auf eine geringe Expansion des MOF Gitters durch die Einlagerung des Thiol-Moleküls hindeutet.

Abb. 60 b) zeigt die Ergebnisse der thermogravimetrischen Untersuchung der drei unterschiedlichen Schritte der Gel Konvertierung. Vor den Messungen wurden die Kristalle zur Aktivierung jeweils für zwei Tage in Chloroform eingelegt, welches alle 12 h ausgetauscht wurde, im zweiten Schritt wurden sie über Nacht bei 75°C im Vakuum getrocknet. [Zn(BA-BDC)] zeigt eine Gewichtsabnahme von etwa 20 % zwischen 100 und 150°C , was auf koordinierende Lösungsmittelmoleküle hindeutet. Die Zersetzung des MOF Gerüsts beginnt oberhalb von 300°C . Der quervernetzte [Zn(BA-BDC)] MOF zeigt einen geringeren Gewichtsverlust zwischen 100 und 150°C , das heißt es sind weniger Lösungsmittelmoleküle an die Metallzentren koordiniert. Dies passt zu den Beobachtungen, dass die quervernetzten [Zn(BA-BDC)] Kristalle sehr hydrophob sind (Abb. 61 a), so dass weniger Wasser aus der Atmosphäre in die Kristalle diffundiert. Das GEL zeigt ein etwas anderes Verhalten, es kommt zu keiner Gewichtsabnahme durch Lösungsmittel. Dies ist durch die Abwesenheit der Metallzentren zu erklären, durch die fehlenden koordinativen Bindungen werden alle Lösungsmittel während der Aktivierung entfernt. Gleichzeitig setzt die thermische Zersetzung des Gels schon bei etwa 250°C ein und führt zu einem totalen Gewichtsverlust von über 70 % bei 500°C . Dieser Unterschied ist ebenfalls durch die fehlenden Metallzentren zu erklären, da die übrigbleibenden anorganischen Anteile im Gel geringer sind.

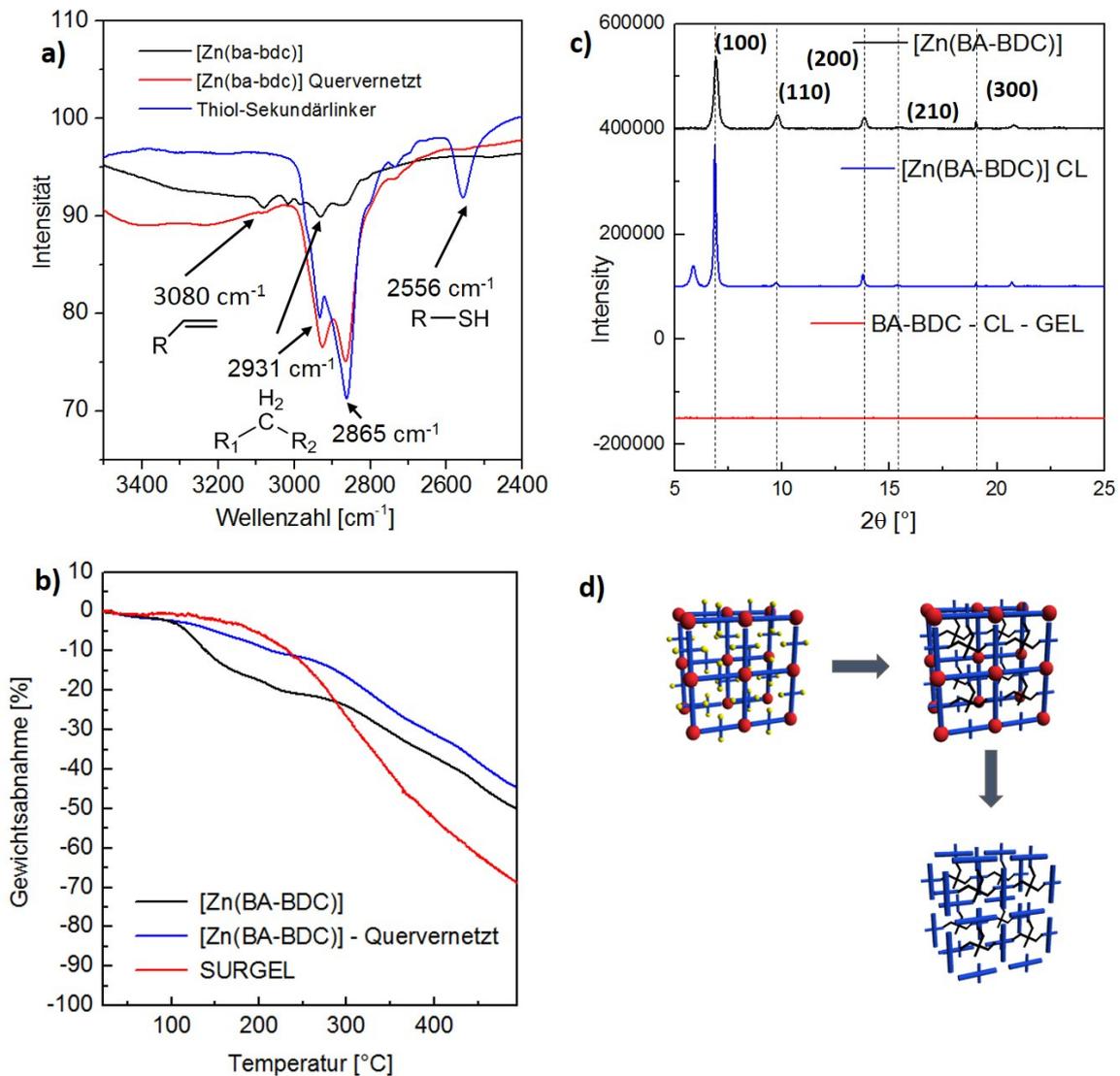


Abb. 60 Quervernetzungsreaktion von $[\text{Zn}(\text{ba-bdc})]$ mit dem Thiol-Sekundärlinker durch Thiol-en Klick Reaktion. Charakterisierung der Thiol-en Klick Reaktion durch (a) IR-Spektroskopie (b) P-XRD und (c) Thermogravimetrie der verschiedenen Schritte der SURGEL Konvertierung.

Zur vollständigen Charakterisierung der Gel Konvertierung wurde das Herauslösen der Zinkionen in der EDTA-Lösung mittels Lichtmikroskop nachverfolgt. In Abb. 61 b) wird das Verhalten der unbehandelten und quervernetzten $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ Kristalle in EDTA Lösung verglichen. Es ist zu erkennen, dass die unbehandelten Kristalle nach 15 min. vollständig aufgelöst werden, während die quervernetzten Kristalle lediglich eine leichte Entfärbung zeigen.

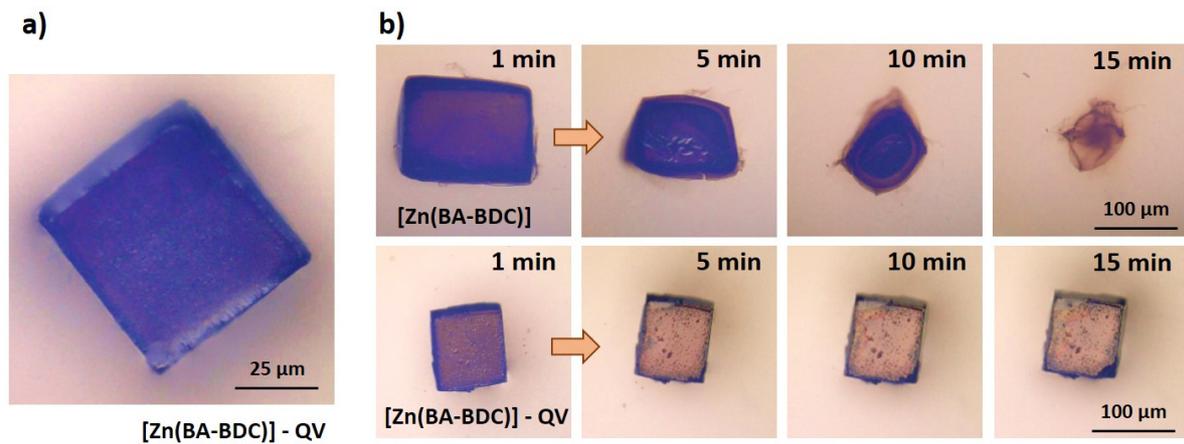


Abb. 61 (a) Die Lichtmikroskop-Aufnahme des quervernetzten Zn(BA-BDC) in Wasser zeigt die Hydrophobizität des Kristalls, da dieser an der Wasseroberfläche schwimmt. (b) Lichtmikroskop Aufnahmen des unbehandelten und quervernetzten [Zn(BA-BDC)] in EDTA Lösung. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich der unbehandelte Kristall auflöst, während der quervernetzte Kristall nur eine leichte Entfärbung während des Herauslösens der Zink Ionen zeigt.

Um die Eigenschaften des Gels weiter zu untersuchen, wurden die Kristalle vor dem Quervernetzen mit dem Farbstoff Rhodamin 6G beladen. Dafür wurden die Kristalle über Nacht in einer DMF Rhodamin Lösung eingelegt, die erfolgreiche Diffusion des roten Farbstoffes konnte mittels Lichtmikroskop nachverfolgt werden.

Anschließend wurden die Kristalle mit Toluol gewaschen und in einer PETMA Toluol Lösung unter einer 365 nm UV Lampe für etwa eine Stunde unter mehrmaligen Schütteln beschienen. Nach dem Quervernetzen wurden die Rhodaminbeladenen, quervernetzten [Zn(BA-BDC)] Kristalle für zwei Stunden in eine wässrige EDTA Lösung eingelegt. Die roten GEL Partikel wurden anschließend mit dem Konfokalmikroskop (Abb. 62) untersucht.

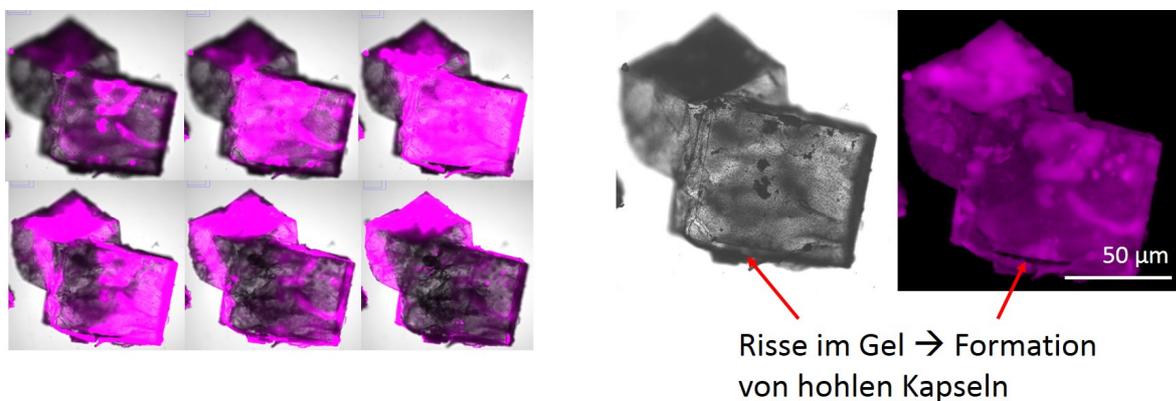


Abb. 62 Konfokalmikroskop-Aufnahmen der Rhodamin beladenen Gel Kapseln (links) Tiefenprofil mittels Z-Scan (rechts) Risse im Gel verdeutlichen die Formation von hohlen Kapseln.

Sowohl im Z-Scan als auch in der Übersichtsaufnahme ist an kleinen Rissen im Gel zu erkennen, dass es zur Bildung von hohlen Kapseln kommt. Dies bedeutet, dass die Gel-Konvertierung nicht im ganzen Kristall sondern nur an der Oberfläche des Kristalls stattfindet. Die Ursache dessen ist vermutlich die Eindringtiefe des UV Lichtes in den Kristall. Durch die Absorptionseigenschaften des MOFs kommt es im Bereich des UV Licht zur Absorption und damit zu einer Schwächung der Intensität des UV Lichtes mit zunehmender Eindringtiefe.¹⁶⁴

Um das Quellverhalten des Gels zu testen, wird die Freisetzung des Farbstoffs aus den Gel Kapseln getestet. Wie in Kapitel 4.1.6 beschrieben wird durch verschiedene Lösungsmittel, wie DMF eine Quellung im Gel induziert, durch diese Quellung kann der in den Poren eingelagerte Farbstoff freigesetzt werden. Die Freisetzung des Rhodamins aus den Gel-Kapseln wurde im Konfokalmikroskop untersucht. Dafür wurde ein mit Rhodamin beladener Gel-Partikel unter dem Konfokalmikroskop in 1 ml DMF eingelegt und die Freisetzung alle zwei Minuten festgehalten. Wie in Abb. 63 zu erkennen, wird der Farbstoff in die umgebende DMF Lösung abgegeben. Die Korona erreicht bei etwa 8-10 min ein Maximum und nimmt anschließend durch die Verteilung des Rhodamins im gesamten DMF wieder ab. Nach etwa 50 min ist die Rhodamin Konzentration im Partikel nur noch sehr gering, die Freisetzungskinetik entspricht daher ungefähr der des durch Alkin/Azid Klick Reaktion hergestellten SURGELs (Vergleiche Abb. 45).

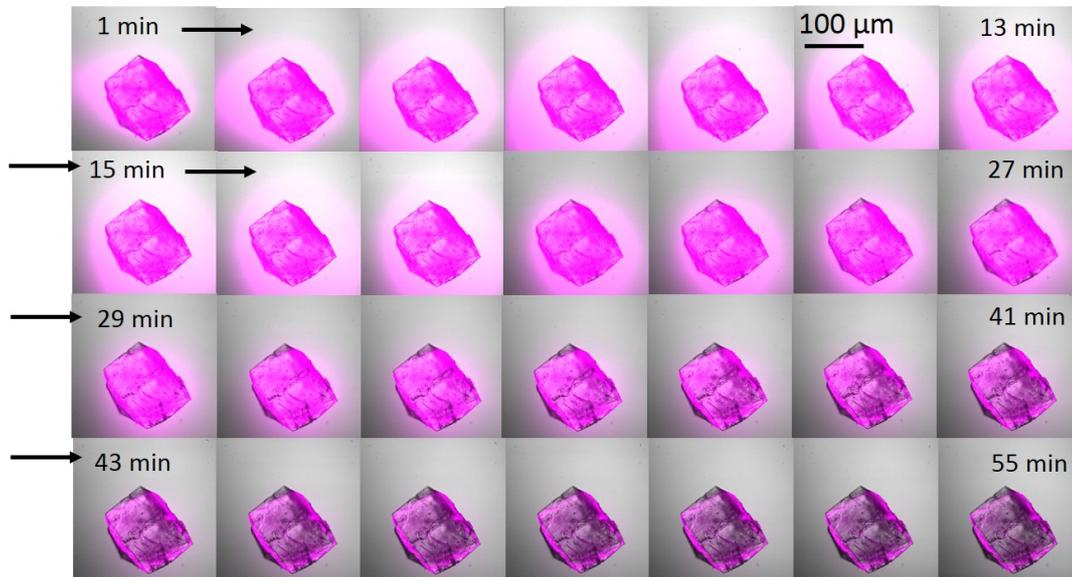


Abb. 63 Rhodamin 6G Freisetzung in DMF aus den farbstoffbeladenen Gel Partikeln.

4.3.2.3 Strukturierte Funktionalisierung von [Zn(BA-BDC)] mittels Thiol-en Klick-Reaktion

Nachdem die Konvertierung der [Zn(BA-BDC)] Kristalle zum polymeren GEL erfolgreich gezeigt werden konnte, soll nun ein weiterer Vorteil der UV Initiierung der Thiol-en Klick Reaktion ausgenutzt werden. Durch Verwendung eines Konfokalmikroskops mit

fokussierbaren Laser, können bestimmte Bereiche des Kristalls ausgewählt und dem UV-Licht ausgesetzt werden.

Um eine lokale Funktionalisierung der Kristalloberfläche mit einem Farbstoffmolekül zu erreichen, wurden die zuvor frisch synthetisierten [Zn(BA-BDC)] Kristalle in eine Methanol Lösung eines Dithiols und des Alkin-funktionalisierten Farbstoffmoleküls eingelegt. Wie in Abb. 64 (oben) zu erkennen, wird somit durch einstrahlen des UV-Lasers eine simultane Thiol-en und Thiol-in Reaktion zwischen Linker bzw. Farbstoff und dem Dithiol gestartet. Dies führt zu einer lokalen Initiierung der Reaktion, nur an den, dem UV-Laser ausgesetzten Bereichen.

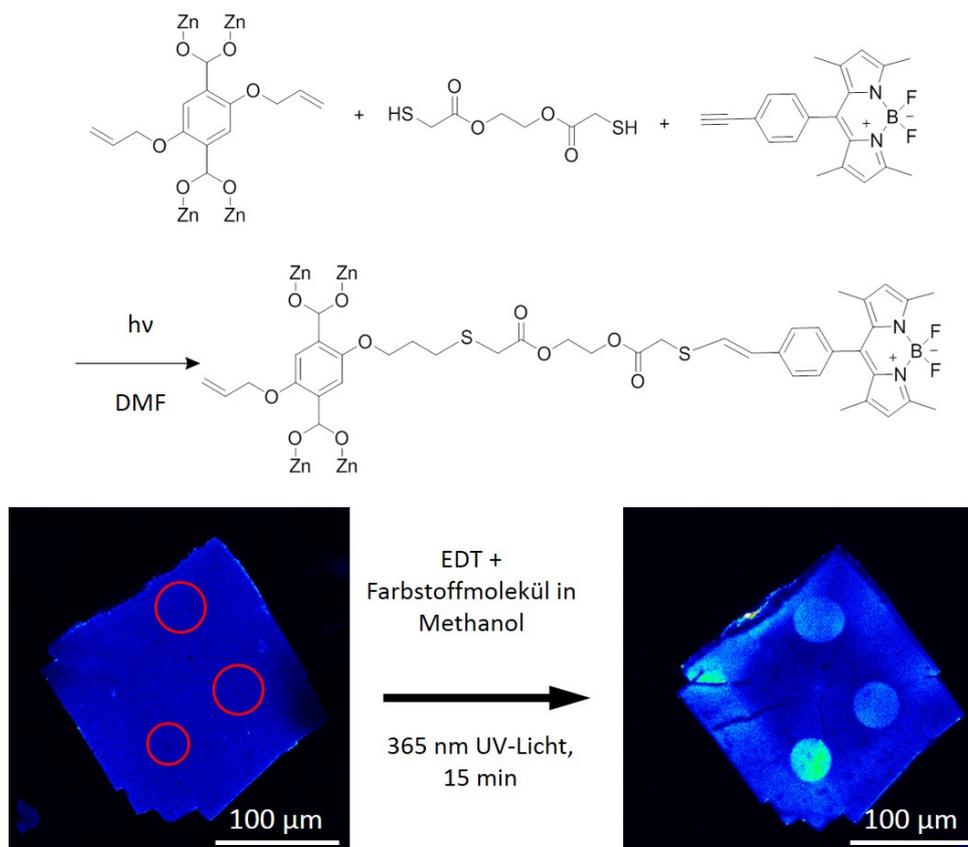


Abb. 64 Darstellung der lokalen Funktionalisierung der frisch synthetisierten [Zn(BA-BDC)] Kristalle mit einem alkynefunktionalisierten Farbstoffmolekül. Für die Reaktion werden die Kristalle in eine Lösung des Dithiols und des Farbstoffmoleküls in Methanol gegeben. Nach dem lokalisierten Belichten einiger Bereiche (durch rote Kreise markiert) und anschließendem Waschen ist die orts aufgelöste Funktionalisierung des Farbstoffes gut zu erkennen.

Die Kristalle werden nach der lokalen Belichtung aus der Farbstofflösung entfernt und gründlich mit DMF und Methanol gewaschen. Anschließend ist im Fluoreszenzmikroskop eine lokale Fluoreszenz des Farbstoffes in den belichteten Bereichen zu erkennen.

4.3.3 Konvertierung von [Zn(BA-BDC)] bzw. [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] SURMOF zu SURGEL *via* Thiol-en Klick Reaktion

Um die vielseitige Einsetzbarkeit des Thiol-en Ansatzes zur Gel-Konvertierung zu zeigen, wurden die aus den Einkristallstudien gewonnenen Erkenntnisse zu [Zn(BA-BDC)] nun auf die SURMOF Dünnschichten übertragen. Dafür wurde der „pillared-layered-MOF“ [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] mittels Schicht-für-Schicht Synthese auf ein funktionalisiertes Goldsubstrat aufgebracht. Bei dieser MOF Struktur werden die zweidimensionalen Zn(BA-BDC) Schichten mittels eines monodentaten, ditopen Liganden wie dabco verbrückt (siehe Kapitel 1.1.2). Damit wird nicht nur die erfolgreiche Anwendung des Ansatzes auf unterschiedlich strukturierte MOF Systeme gezeigt, sondern gleichzeitig auch noch die Variabilität hinsichtlich der molekularen Strukturierung.

4.3.3.1 Synthese und Charakterisierung des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] SURMOFs

Für die Synthese des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] SURMOFs wurde die Pumpenmethode (siehe Kapitel 3.4.1.1) verwendet. Der Aufbau erfolgt auf einem mit Mercaptoundecanol (MUD) funktionalisierten Silika/Gold Substrat. Da es sich um ein neues SURMOF System handelt, wurde der Aufbau des MOFs mittels *in-situ* Messung in der QCM-D nachverfolgt. Dafür wurde ein mit MUD funktionalisierte QCM Substrat in die Probenkammer eingelegt und mithilfe eines automatisierten Pumpensystems für 30 Zyklen abwechselnd mit der Kupferacetat Lösung, Ethanol und der BA-BDC/dabco Lösung überspült. Die in Abb. 65 (A) aufgetragene Messung wurde bei 60 °C durchgeführt. Es ist eine Massenzunahme von ungefähr 200 ng/cm² pro Zyklus zu erkennen. Mit einer grob ermittelten Dichte von [Zn(ba-bdc)(dabco)_{0.5}] von 1.50 g/cm³, entspricht dies einer Zunahme der Schichtdicke von etwa 1.3 nm pro Zyklus. Die durch die XRD Daten ermittelte Zellkonstante in 001 Wachstumsrichtung liegt mit 9.57 Å im Rahmen der ermittelten Daten. Es konnte also das erfolgreiche Schritt-für-Schritt Wachstum des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] gezeigt werden.

Eine weitere Charakterisierung des SURMOFs erfolgte mittels XRD, IRRA-Spektroskopie und QCM Isothermen. Das in Abb. 65 (C) dargestellte Röntgendiffraktogramm zeigt einen Peak bei 9.86°, der bei der ersten Betrachtung nicht zu der erwarteten 001 Orientierung des [Zn(BDC)(dabco)_{0.5}] Systems passt.¹⁶⁵ Bei genauerer Untersuchung, von Arbeiten von Henke *et al.* wird das Atmungsverhalten von Zn(x-bdc)(dabco)_{0.5} MOFs in Abhängigkeit unterschiedlicher Seitengruppen beschrieben.¹¹⁹ Anhand dieser Daten ist ersichtlich, dass der [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] SURMOF in einer 100 Orientierung in der engporigen Form einer monoklinen C2/m Raumgruppe vorliegt. Interessant dabei ist, dass die engporige Form der von Fischer synthetisierten Einkristalle nur unter extremen Bedingungen (120 °C im Vakuum) erhalten werden konnte und nur in der Glovebox stabil blieb, während der SURMOF ersten Versuchen zu folge selbst nach

mehrtägigen Verbleib in DMF die engporige Form beibehält. Dafür kann im Moment keine ausreichende Erklärung angeboten werden, wird aber in weiteren Experimenten untersucht.

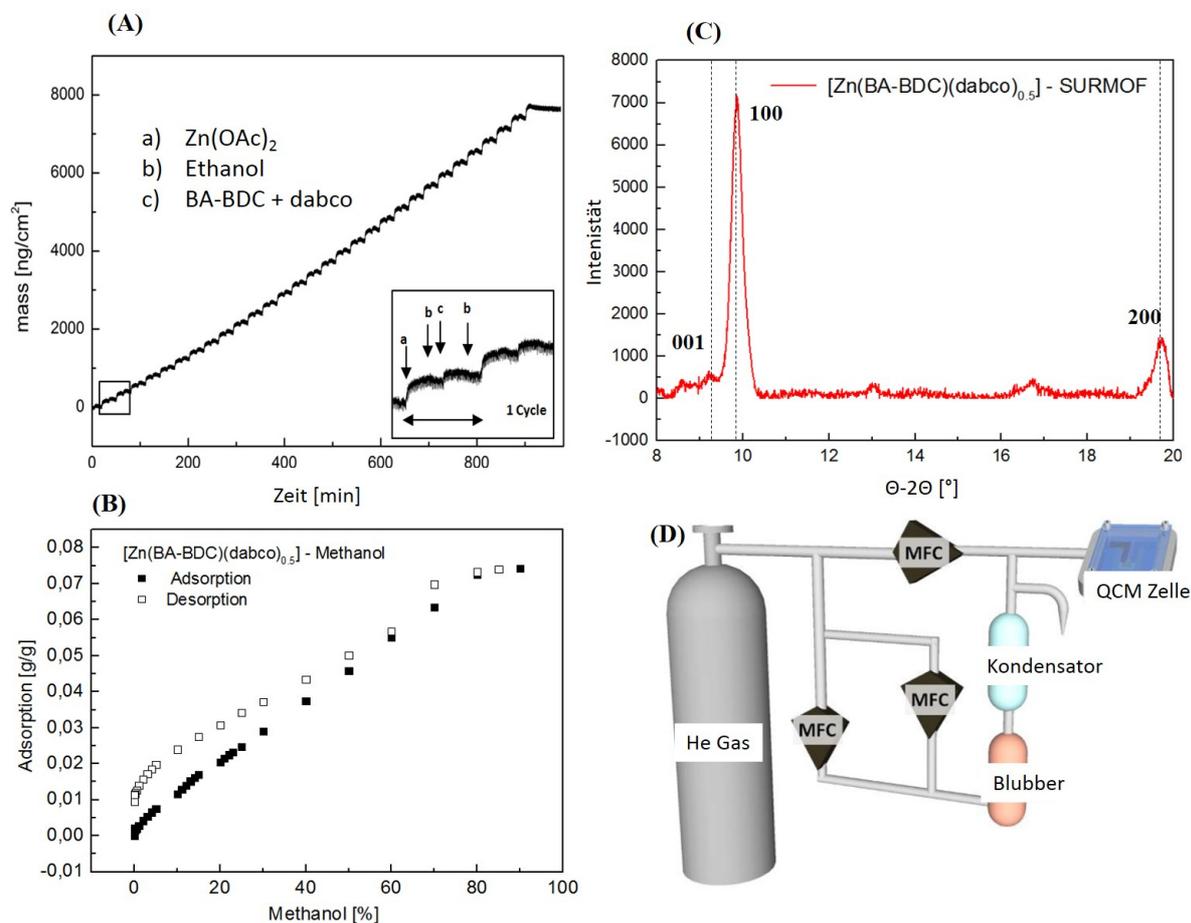


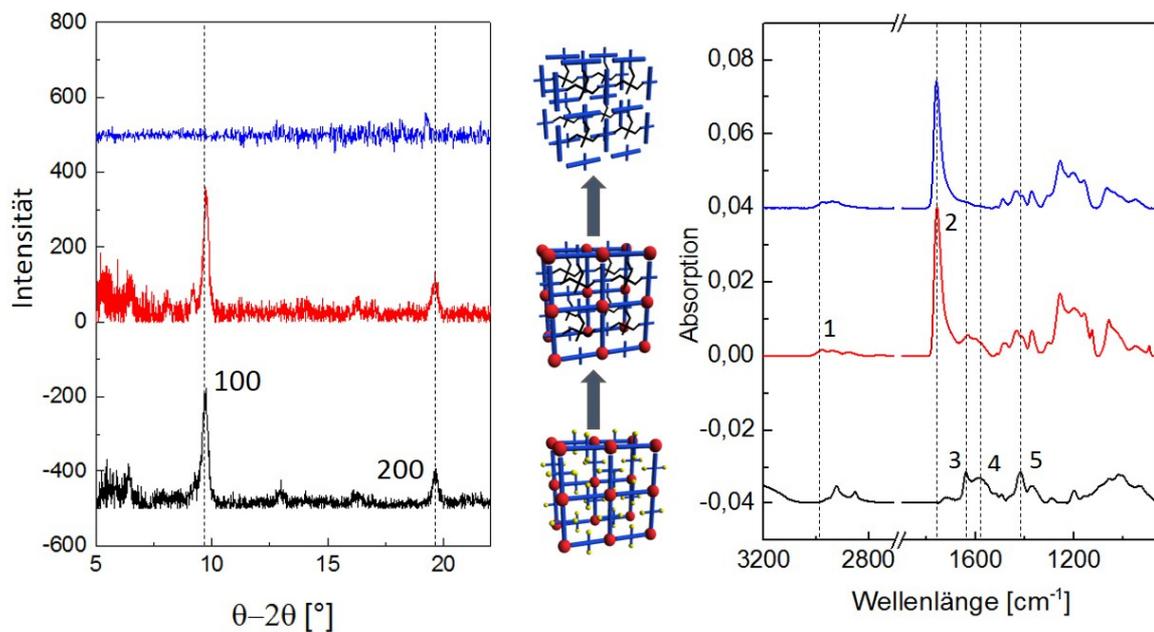
Abb. 65 Charakterisierung des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] SURMOFs mittels (A) in-situ QCM Messung des SURMOF Wachstums bei 65 °C. (B) Röntgendiffraktogrammetrie und (C) QCM Adsorptionsisotherme. (D) schematischer Aufbau des Aufbaus der QCM Zelle mit kontrollierter Gasatmosphäre (Modifiziert übernommen aus ¹⁶⁶)

Zusätzlich wurde eine QCM System mit kontrollierter Gasatmosphäre genutzt, um Sorptionsstudien vorzunehmen. Der partielle Dampfdruck von flüchtigen organischen Lösungsmitteln kann in der QCM Kammer mittels Helium als Trägergas exakt eingestellt werden.¹⁶⁶ Die Isothermen wurden mit Methanol durchgeführt, für die Messung wurden 30 Zyklen des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] SURMOFs mittels Lage-für-Lage Synthese auf die QCM Substrate aufgebracht. Für die Aktivierung des SURMOFs wurden die beschichteten QCM Substrate für 16 h in Dichlormethan eingelegt und anschließend über Nacht im Vakuum bei 75 °C getrocknet. Die Adsorptionsisotherme wurde mit Methanol aufgenommen, wie in Abb. 65 (B) dargestellt, zeigt die Adsorptionsisotherme eine Aufnahme von etwa 0.08 g/g SURMOF, dieser Wert liegt in der aus der Literatur bekannten Größenordnung.¹⁶⁷

4.3.3.2 SURGEL Konvertierung des $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ SURMOFS via Thiol-en Klick Reaktion

Nach der erfolgreichen Synthese und vollständigen Charakterisierung des $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ SURMOFs wird die Vernetzungsreaktion mit dem multifunktionalen Tetrathiol Sekundärlinker PETMA durchgeführt. Dafür wurden die $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ Substrate über Nacht in eine 5 $\mu\text{l}/\text{mL}$ Toluol-PETMA Lösung eingelegt, um die Diffusion des Sekundärlinkers in die Poren zu ermöglichen. Anschließend wurden die Substrate für eine Stunde unter 365 nm UV Licht platziert.

Nach dem Vernetzten der $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ SURMOFs, werden die Zink Ionen im letzten Schritt der GEL-Konversion aus dem Gitter herausgelöst. Dafür werden die quervernetzten SURGEL Proben für 30 min in eine EDTA Lösung aus Ethanol/Wasser im Verhältnis 1/1 gelegt. Während dies bei unbehandelten $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ Filmen zur vollständigen Auflösung führt, bleibt beim quervernetzten SURMOF der SURGEL Film auf der Oberfläche sichtbar.



	Wellenzahl	Zuordnung	Veränderung
1	2965 cm^{-1}	$\nu_{\text{asym}}(\text{CH}_3)$ - Sekundärlinker	Erscheint nach dem Quervernetzen
2	1785 cm^{-1}	$\nu(\text{COOR})$ - Sekundärlinker	Erscheint nach dem Quervernetzen
3	1637 cm^{-1}	$\nu_{\text{asym}}(\text{COO}^-)$ - SURMOF	Verschwindet nach EDTA
4	1581 cm^{-1}	$\nu_{\text{asym}}(\text{CC})\text{Ring}$ - SURMOF	Keine Veränderung
5	1418 cm^{-1}	$\nu_{\text{sym}}(\text{COO}^-)$ - SURMOF	Verschwindet nach EDTA

Abb. 66 XRD (links) und IRRAS (rechts) der verschiedenen Schritte der SURGEL Konvertierung. Die schwarzen Linien zeigen den unbehandelten $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ SURMOF, der quervernetzte SURMOF ist in Rot dargestellt und das SURGEL in blau.

Abb. 66 (rechts) zeigt die IRRA-Spektren der verschiedenen Schritte der SURGEL Konversion eines $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ SURMOFs. Unten in schwarz ist der unbehandelte SURMOF zu erkennen, die charakteristischen Schwingungsbanden der asymmetrischen (1637 cm^{-1}) bzw. symmetrischen (1418 cm^{-1}) Streckschwingung des Zinkcarboxylats (COO^-) zu erkennen. Auch die asymmetrische Schwingung des konjugierten Ringsystems (1581 cm^{-1}) des BA-BDC ist gut zu erkennen.

Nach dem Vernetzen des SURMOFs mit dem Tetrathiol **14** und anschließendem gründlichen Spülens mit Ethanol, sind im IRRA-Spektrum (Abb. 66(rot)) zusätzlich zu den SURMOF Banden die charakteristischen Banden des Sekundärlinkers zu erkennen. Benannt sind die asymmetrische Streckschwingung der CH_3 -Gruppe (2965 cm^{-1}) und der sehr starke Peak der Estergruppe (1785 cm^{-1}). Nach dem Herauslösen der Zink-Ionen und somit der endgültigen SURGEL Konversion kann man im dazugehörigen IRRA-Spektrum (blau) die charakteristischen Banden des Tetrathiols noch sehr gut erkennen. Die von der Intensität her schwächeren Banden des SURMOFs werden von denen des Thiols zwar überlagert, allerdings kann noch eine Abnahme der COO^- Schwingung beobachtet werden. Dies ist analog zu dem Azid/Alkin basierten SURGEL System, bei dem sich das Kupfercarboxylat von 1690 cm^{-1} nach dem Entfernen des Kupfers zur freien Säure ($-\text{COOH}$) bei 1730 cm^{-1} verschiebt. In dem hier gezeigten System wird dieser Bereich allerdings von der sehr starken Esterbande des Sekundärlinkers überlagert, so dass die freie Säure nicht zu erkennen ist. Allerdings kann anhand der IRRA-Spektren und der optischen Untersuchung des Films auf der Oberfläche eine erfolgreiche Konversion zum SURGEL gezeigt werden.

Das Röntgendiffraktogramm des unbehandelten $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ in Abb. 66 (links) zeigt die schon weiter oben beschriebene 100 Orientierung der engporigen, monoklinen Form des pillared-layered MOFs. Man kann erkennen, dass die Kristallinität der SURMOF Struktur durch den Sekundärlinker nicht beeinflusst wird. Erst nach dem Herauslösen der Zinkionen mittels EDTA Lösung führt die SURGEL Konvertierung zu einem XRD amorphen Gel.

4.3.4 SURGEL Adsorptionsisothermen

Um das durch Thiol-en Klick Reaktion hergestellte SURGEL genauer zu charakterisieren, wurden Adsorptionsisothermen aufgenommen und mit denen des unbehandelten SURMOFs verglichen. Dafür wurden die in 4.3.3.1 beschriebenen SURMOF beschichteten QCM Substrate verwendet und nach der Adsorptionsisothermen-Messung einer SURGEL Konvertierung unterzogen. Anschließend wurden die SURGEL Substrate in gleicher Weise aktiviert wie die SURMOF Substrate und für 16 Stunden in Dichlormethan eingelegt und anschließend über Nacht im Vakuum bei 75°C getrocknet. Um den Einfluss

des Sekundärlinkers zu untersuchen, wurden drei verschiedene Thiole verwendet, die sich in Größe und Reaktivität unterscheiden. Dafür wurden zwei Thioglykolat-ester (**13,14**) verwendet, die Estergruppe führt zu einer Aktivierung des Thiols, da durch die S-H Bindung durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen des Thiols mit der Carbonylgruppe des Esters geschwächt wird.¹⁶¹ Gleichzeitig wurde der difunktionelle Thioglykolat-ester (**13**) mit einem difunktionellen Glykol-thiol (**12**) verglichen. Die Ergebnisse der Adsorptionsisothermen-Messung sind in Abb. 67 zu sehen.

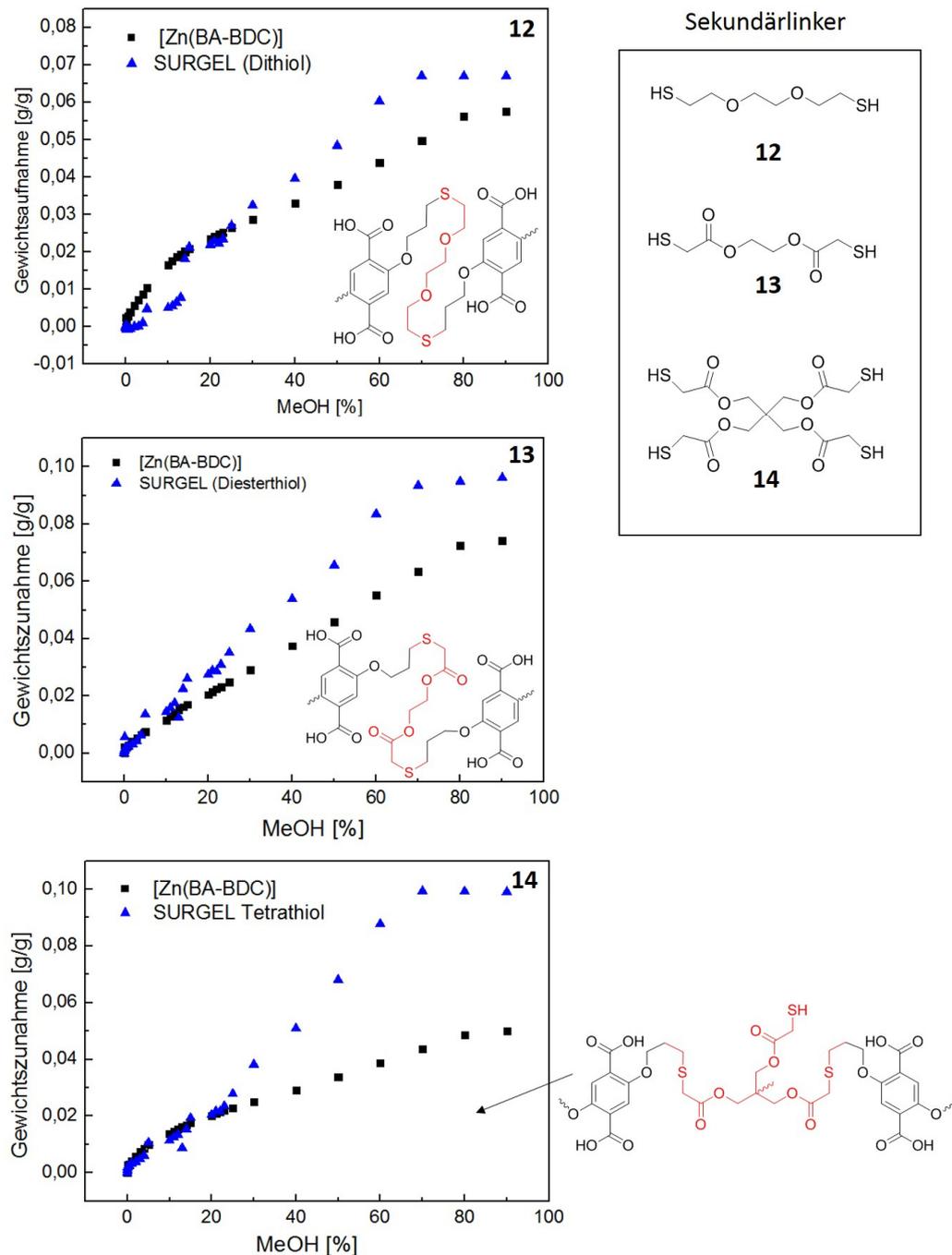


Abb. 67 Methanol-Adsorptionsisothermen des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] (Schwarz) und verschiedener SURGEle (blau) mit unterschiedlichen Thiol-Sekundärlinkern.

Es ist zu erkennen, dass die SURGELe (blau) jeweils eine Methanol Adsorption von etwa 0.1 g/g SURGEL zeigen. Damit zeigen sie eine höhere relative Aufnahme als die SURMOF Templat-Strukturen. Die beiden mit den Thioglykolat-estern (**13,14**) vernetzten Proben zeigen eine vergleichsweise hohe Aufnahme von Methanol bei geringen Drücken und damit eine den Isothermentyp eines mikroporösen Polymers. Die Hydrophilie der SURGELe durch die zusätzlichen Carbonsäuregruppen erklärt die höhere Aufnahme des hydrophilen Methanols bei größeren Drücken. Das mit Thiol **12** quervernetzte SURGEL zeigt mit 0.07 g/g eine etwas geringere Methanol Adsorption als die beiden anderen, gleichzeitig ist die Adsorption bei geringen Drücken deutlich niedriger als die des SURMOFs. Vermutlich ist die Quervernetzung nicht vollständig verlaufen, dadurch bleibt die Mikroporosität im SURGEL nicht erhalten.

4.3.5 Strukturierte Oberflächenfunktionalisierung des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] via Thiol-en Klick Reaktion

Nach der erfolgreichen SURGEL Konvertierung des [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] soll nun gezeigt werden, dass die Thiol-en Reaktion auch für die Herstellung von strukturierten Proben geeignet ist. Die Synthese von [Zn(BA-BDC)(dabco)_{0.5}] als homogener, dünner Film auf Gold ermöglicht ein sehr einfaches und schnelles Strukturieren der Oberfläche mithilfe einer Photomaske. Dafür wird der SURMOF Film wie in Abb. 68 gezeigt mit der Lösung eines Thiol funktionalisierten Rhodamin Farbstoffmoleküls und anschließend mit einer Photomaske bedeckt. Nach der Bestrahlung der bedeckten Probe mit UV Licht und dem anschließenden gründlichen Reinigen, ist auf der Probe im Fluoreszenzmikroskop eine Funktionalisierung zu erkennen. Nur die, dem UV Licht ausgesetzten Bereiche sind durch die UV-iniierte Thiol-en Reaktion funktionalisiert. Somit konnte eine erfolgreiche Strukturierung der Probe durch UV-Licht gezeigt werden.

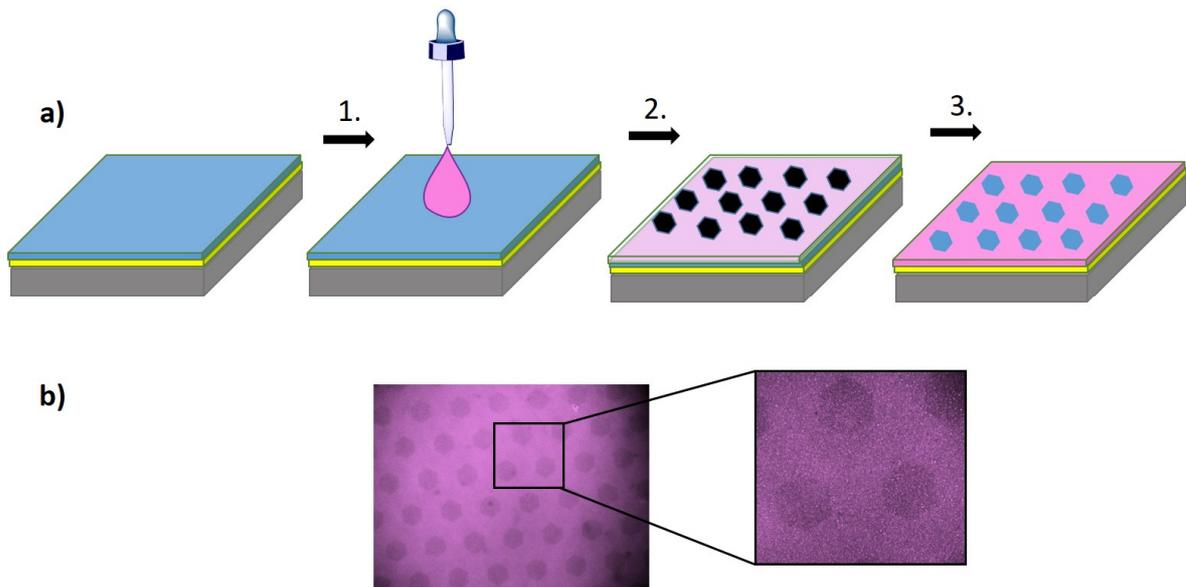


Abb. 68 Darstellung der strukturierten Funktionalisierung des [Zn(BA-BDC)] SURMOFs mit einem Thiol funktionalisierten Rhodamin Farbstoff. (a) zeigt die schematische Darstellung der Strukturierung unter Verwendung einer Photomaske. 1. Die Thiol-Farbstofflösung wird auf den SURMOF getropft, 2. Die Quarzglas Photomaske wird direkt auf den SURMOF aufgelegt, so dass die Farbstoff Lösung einen dünnen Film bildet. 3. Nach Bestrahlung mit 254 nm UV Licht, dem Entfernen der Photomaske und dem Waschen des Substrates, ist im Fluoreszenzmikroskop (b) die Strukturierung zu erkennen.

4.3.6 Zusammenfassung

Im diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass die SURGEL Herstellung universal für verschiedene MOF-Materialien und mit verschiedenen Klick-Reaktionen zugänglich ist und dass die Strukturierung auf molekularer Ebene kontrolliert und verändert werden kann um die gewünschten Materialeigenschaften zu erhalten. Dies ist bereits ein wichtiger Schritt für die Herstellung von Biomaterialien, da durch die Verwendung verschiedener MOF-Template und unterschiedlicher Poreneigenschaften unterschiedliche Beladungen und Funktionalisierungen des daraus entstehenden Biomaterials realisiert werden können.

Es wurde gezeigt, dass das Prinzip der Gel Konvertierung von dem schon bekannten und etablierten System, bei dem die organischen Linker mittels Azid/Alkin Klick Reaktion miteinander vernetzt werden, um eine neue Art von Klick Chemie erweitert werden kann. Bei der hier gewählten Reaktion handelt es sich um die UV-Licht induzierte Thiol-en Klick Reaktion. Mit dieser Veränderung des Systems kann sowohl die molekulare Variabilität des SURGEL Ansatzes gezeigt werden, als auch die Eigenschaften des SURGELS bezüglich mechanischen und chemischen Eigenschaften verändert werden. Dies ist für die biologische Anwendung sehr interessant, da sowohl die Möglichkeit der postsynthetischen

Modifizierung als auch das Einlagerungs- und Freisetzungsverhalten von Gastmolekülen verändert werden kann.

Im ersten Schritt wurde der Alken-funktionalisierte BA-BDC Linker synthetisiert und mittels einer solvothermalen Reaktion mit Zinknitrat zu $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})]$ Einkristallen umgesetzt. Anschließend konnte die Quervernetzung der Einkristalle mit einem tetrafunktionellen Thiol gezeigt werden, diese zusätzliche Vernetzung führt zu einer Stabilität des Gerüsts unabhängig von den Zink Ionen, so dass diese mit EDTA herausgelöst werden können um die Konvertierung in ein poröses polymeres Gel abzuschließen. Zusätzlich konnte das Quellverhalten dieser Gel-Partikel in DMF anhand der Freisetzung eines Rhodamin-Farbstoffes gezeigt werden.

Anschließend wurde das System auf $[\text{Zn}(\text{BA-BDC})(\text{dabco})_{0.5}]$ SURMOF Substrate angewandt, auch hier konnte die erfolgreiche SURGEL Konvertierung gezeigt werden. Zusätzlich konnte mittels Methanol Adsorptionsisothermen die porösen Eigenschaften des SURGELS gezeigt werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Doktorarbeit wurde die Materialklasse der SURGELe weiterentwickelt und für die biologische Anwendung optimiert.

SURGELe werden durch postsynthetische Modifikation ausgehend von SURMOF-Dünnschichten hergestellt. Die Synthese der SURMOFs läuft über ein quasi-epitaktisches Lage-für-Lage Verfahren, wobei ein funktionalisiertes Substrat abwechselnd in eine Lösung aus Metallionen und organischen Liganden getaucht wird. Dadurch kommt es zu einem schichtweisen Aufbau eines homogenen, porösen und in nur eine Orientierung ausgerichteten SURMOFs Films. Durch Verwendung vorfunktionalisierter organischer Liganden können diese porösen Netzwerke anschließend mit einem multifunktionellen, organischen Sekundärlinker umgesetzt werden, was zu einer zusätzlichen Verstrebung der Liganden führt. Diese zusätzliche strukturelle Stabilität ermöglicht im Anschluss das Herauslösen der Metallionen unter Bildung eines polymeren, quervernetzten und auf der Oberfläche verankerten SURGEL Film. Mit den SURGELen erhält man eine neue Materialklasse die die Vorteile der MOF Materialien mit denen idealer poröser Polymernetzwerke vereint.

Mit der Möglichkeit die Poren der SURGELe mit kleinen Molekülen zu beladen und die nicht abreagierten funktionellen Gruppen der Sekundärlinker für eine weitere postsynthetische Modifikation zu nutzen, bilden die SURGELe eine ideale Plattform für die Verwendung als Biomaterialien. An dieser Stelle setzt meine Arbeit an, in der die Optimierung der SURGELe hinsichtlich der Einlagerung und der Freisetzung kleiner Moleküle als auch die Wechselwirkungen mit verschiedenen Zellsystemen untersucht wurde.

Im ersten Abschnitt wurde die Synthese von hierarchisch aufgebauten, multilagigen SURGEL Kapseln beschrieben, wobei durch den epitaktischen Aufbau der SURMOFs verschieden funktionalisierte Schichten aufgebaut werden können. Kombiniert mit der Gel-Konvertierung der äußeren SURMOF Schicht gelingt die Synthese von multilagigen Kapseln, wobei die verschiedenen Schichten unterschiedliche Funktionen einnehmen. Diese Kapseln zeigen eine pH Wert abhängige Freisetzung der in der inneren Schalen angebondenen Farbstoffmoleküle. Damit dienen sie als Modellsystem für die spätere Verwendung in der oralen Wirkstoffgabe. Der eingelagerte Wirkstoff wird in den SURGEL Kapseln verbleiben, bis die basische Umgebung des Darms eine Schwellung im Gel induziert und somit die Freisetzung des Wirkstoffes auslöst, der dann im Darm in den Blutkreislauf aufgenommen werden kann.

Zusätzlich wurden die SURGEL-Membranen bezüglich einer Verwendung als Zellkultursubstrat optimiert. In Anbetracht einer Verwendung der SURGELe als bioaktive

Schicht zwischen Implantat und Gewebe wurden hauptsächlich knochenbildende Zellsysteme untersucht. Die medizinische Forschung in Bezug auf Biomaterialien, hat sich in den letzten Jahrzehnten von inerten Implantat Materialien hin zu biomimetischen Materialien entwickelt, die aktiv an der Zellansiedelung und der Osteointegration des Implantats in den Knochen beteiligt sind. Die Aufgabe von biomimetischen Materialien, nämlich die möglichst genaue Nachbildung der natürlichen Zellumgebung, beinhalten sowohl mechanische und topologische Eigenschaften des Materials, als auch die Bereitstellung chemischer Reize anhand von Oberflächenfunktionalisierung. Um dieses Ziel zu verfolgen wurden Toxizitätsstudien mit mesenchymalen Stammzellen und der Osteoblasten-ähnlichen Osteosarkom Zelllinie CAL-72 durchgeführt, beide Zelllinien sind für die Bildung von Knochenzellen und Knochenmaterial zuständig und daher maßgeblich an einer erfolgreichen Osteointegration beteiligt. Um eine optimale Zellanbindung an das SURGEL zu erreichen, wurde anschließend das aus der extrazellulären Matrix bekannte RGD (Gly-Lys-Asp) Peptid kovalent auf die Oberfläche aufgebracht. Dieses ist in der natürlichen Umgebung der Zellen für die Adhäsion der Zellen an die ECM-Proteine zuständig. Nachdem gezeigt werden konnte dass die zuvor schon gute Zelladhäsion durch das RGD noch verbessert werden konnte, wurde die Licht-induzierte Thiol-en Reaktion dazu genutzt die Biofunktionalisierung mittels einer Photomaske strukturiert auf die Membran aufzubringen.

Im letzten Teil der Arbeit wurde die strukturelle Variabilität der SURGELs untersucht. Vor allem hinsichtlich einer Verwendung als Zellkultursubstrat spielt die Elastizität, die Dichte und die Art der Oberflächenfunktionalisierung und die Porengröße des SURGELs eine entscheidende Rolle. All diese Parameter können mit der Wahl eines geeigneten SURMOFs gezielt gesteuert werden. So wurde der Ansatz der SURGEL Konvertierung durch Verwendung der Thiol-en Klick-Chemie erweitert. Alken-funktionalisierte MOFs konnten so mit verschiedenen multifunktionellen Thiol-Sekundärlinkern quervernetzt werden. Der Vorteil der UV Licht induzierten Thiol-en Klick-Reaktion ist die Möglichkeit zu einer strukturierten Funktionalisierung der Substrate. Die Gel Konvertierung und strukturierte Funktionalisierung konnte sowohl an MOF Einkristallen als auch an SURMOF Dünnschichten gezeigt werden. Die Einkristall Gel-Konvertierung führt zu der Bildung von hohlen Gel-Partikeln, deren Eignung zur Beladung und Freisetzung von kleinen Molekülen anhand des Rhodamin Farbstoffes gezeigt werden konnte. Durch die Verwendung verschiedener Thiol-Sekundärlinker konnten drei unterschiedliche Thiol-SURGELs hergestellt werden, die sich sowohl in deren mechanischen Eigenschaften als auch in der Dichte der Oberflächenfunktionen unterscheiden. Mithilfe von QCM Sorptionsmessungen konnte die Mikroporosität der SURGELs gezeigt werden.

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass diese Arbeit das Potential der SURGEL Materialklasse für die biologische Anwendung zeigen konnte. Die getesteten Zelltypen zeigen keinerlei Toxizität und wachsen gut auf dem SURGEL an. Zusätzlich kann durch die Verwendung der Oberflächenfunktionen eine weitere postsynthetische Modifikation mit Biomolekülen durchgeführt werden um die Zelladhäsion weiter zu verbessern. Das hier mit RGD gezeigte Prinzip kann auch auf viele weitere Biomoleküle erweitert werden.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Poren des SURGELS mit Gastmolekülen beladen werden können und diese gezielt an die Umgebung abgegeben werden können. Gemeinsam mit der Möglichkeit der strukturellen Variabilität der Veränderung der Porengröße und der Funktionalitäten ergibt sich ein System mit vielen einstellbaren Parametern für eine optimale Zell/SURGEL Wechselwirkung.

6 ANHANG

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Chemikalien:

SAM	Selbstassemblierende Monolage
CMMT	9-Carboxy-10-(mercaptomethyl)triptycene
MHDA	16-Mercaptohexadecansäure
MUD	11-Mercaptoundecansäure
MOF	metal-organic-framework
SURMOF	Surface anchored metal-organic framework
magMOF	magnetische Nanopartikel@MOF
ZIF	Zeolithic imidazol frameworks
MIL	Material Insitut Lavoiser
IRMOF	Isorecticular metal-organic Frameworks
HKUST-1	Hong-Kong University [Cu ₃ (btc)]
MOF-5/IRMOF-1	[Zn ₄ O(bdc) ₃]
BTC	1,3,5 – Benzenetricarboxylsäure
BDC	1,4-Benzendicarbonsäure
dabco	1,4-diazabicyclo[2,2,2]oktan
TPDC	1,4-Terphenyldicarbonsäure
BA-TPDC	2',5'-Bis(azidomethyl)-[1,1':4',1''-Terphenyl]-4,4''-Dicarbonsäure
DA-SBDC	2,2'-Diazido-4,4'-stilbendicarbonsäure
BA-BDC	2,5-Bis(allyloxy)-1,4-Benzoldicarbonsäure
BPDC	Biphenyldicarbonsäure
RGD	Arginin-Glycin-Asparaginsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
PMMA	Polymethylmetacrylat
PTFE	Polytetrafluorethylen
DMSO	Dimethylsulfoxid
PETMA	Pentaerythritol Tetramercaptoacetate
EDT	2,2'-(Ethylendioxy)diethanethiol
EMA	Ethylen-bis(2-mercaptoacetat)

Methoden:

QCM-D	Quarzkristall Mikrowaage mit Dissipationsaufzeichnung
IRRAS	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie
ATR	Abgeschwächte-Totalreflexions-Infrarot-Spektroskopie
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
SEM	Rasterelektronenmikroskopie
TG	Thermogravimetrie
ToF-SIMS	Time-of-flight Sekundärionen Massenspektroskopie
XRD	X-Ray Diffraction (Röntgendiffraktometrie)
EDX	Energiedisperse Röntgenspektroskopie

Sonstiges:

ECM	Extrazelluläre Matrix
MSC	Mesenchymale Stammzellen
LbL	Layer-by-Layer (Schicht-für-Schicht)
PSM	Postsynthetische Modifikation
SBU	„Secondary building unit“

7 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Férey, G.; Microporous Solids: From Organically Templated Inorganic Skeletons to Hybrid Frameworks...Ecumenism in Chemistry; *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3084-3098.
- [2] Zhou, H.-C. J. K., Susumu; Metal-Organic Frameworks (MOFs); *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *43*, 5415-5418.
- [3] Furukawa, H.; Cordova, K. E.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; The Chemistry and Applications of Metal-Organic Frameworks; *Science* **2013**, *341*.
- [4] Eddaoudi, M.; Moler, D. B.; Li, H.; Chen, B.; Reineke, T. M.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Modular Chemistry: Secondary Building Units as a Basis for the Design of Highly Porous and Robust Metal–Organic Carboxylate Frameworks; *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 319-330.
- [5] Banerjee, R.; Phan, A.; Wang, B.; Knobler, C.; Furukawa, H.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; High-Throughput Synthesis of Zeolitic Imidazolate Frameworks and Application to CO₂ Capture; *Science* **2008**, *319*, 939-943.
- [6] Zhuang, J.-L.; Ceglarek, D.; Pethuraj, S.; Terfort, A.; Rapid Room-Temperature Synthesis of Metal–Organic Framework HKUST-1 Crystals in Bulk and as Oriented and Patterned Thin Films; *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 1442-1447.
- [7] Li, M.; Dincă, M.; Reductive Electrosynthesis of Crystalline Metal–Organic Frameworks; *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12926-12929.
- [8] Yan, D.; Gao, R.; Wei, M.; Li, S.; Lu, J.; Evans, D. G.; Duan, X.; Mechanochemical synthesis of a fluorenone-based metal organic framework with polarized fluorescence: an experimental and computational study; *J. Mater. Chem.* **2013**, *1*, 997-1004.
- [9] Bailar, J. C., Jr.; Coordination polymers; *Preparative Inorg. Reactions* **1964**, *1*, 1-27.
- [10] Yaghi, O. M.; Li, H.; Hydrothermal Synthesis of a Metal-Organic Framework Containing Large Rectangular Channels; *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10401-10402.
- [11] Rowsell, J. L. C.; Yaghi, O. M.; Metal–organic frameworks: a new class of porous materials; *Microporous Mesoporous Mater.* **2004**, *73*, 3-14.
- [12] Kondo, M.; Yoshitomi, T.; Matsuzaka, H.; Kitagawa, S.; Seki, K.; Three-Dimensional Framework with Channeling Cavities for Small Molecules: {[M₂(4, 4'-bpy)₃(NO₃)₄·xH₂O]}_n (M = Co, Ni, Zn); *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 1725-1727.
- [13] Biradha, K.; Seward, C.; Zaworotko, M. J.; Helical Coordination Polymers with Large Chiral Cavities; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 492-495.
- [14] Biradha, K.; Fujita, M.; Co-ordination polymers containing square grids of dimension 15 [times] 15 Å; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**, 3805-3810.
- [15] Chui, S. S.-Y.; Lo, S. M.-F.; Charmant, J. P. H.; Orpen, A. G.; Williams, I. D.; A Chemically Functionalizable Nanoporous Material [Cu₃(TMA)₂(H₂O)₃]_n; *Science* **1999**, *283*, 1148-1150.
- [16] Kitagawa, S.; Kitaura, R.; Noro, S.-i.; Functional Porous Coordination Polymers; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2334-2375.
- [17] Nagayoshi, K.; Kabir, M. K.; Tobita, H.; Honda, K.; Kawahara, M.; Katada, M.; Adachi, K.; Nishikawa, H.; Ikemoto, I.; Kumagai, H.; Hosokoshi, Y.; Inoue, K;

- Kitagawa, S.; Kawata, S.; Design of Novel Inorganic–Organic Hybrid Materials Based on Iron-Chloranilate Mononuclear Complexes: Characteristics of Hydrogen-Bond-Supported Layers toward the Intercalation of Guests; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 221-232.
- [18] Serpaggi, F.; Loiseau, T.; Taulelle, F.; Férey, G.; Oxyfluorinated compounds with an open framework XX. Synthesis and structural characterization of aza-crown ether templated $\text{Ga}_5\text{F}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}_6$ (MIL-1); *Microporous Mesoporous Mater.* **1998**, *20*, 197-206.
- [19] Serre, C.; Millange, F.; Thouvenot, C.; Noguès, M.; Marsolier, G.; Louër, D.; Férey, G.; Very Large Breathing Effect in the First Nanoporous Chromium(III)-Based Solids: MIL-53 or $\text{CrIII}(\text{OH})\cdot\{\text{O}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2\}\cdot\{\text{HO}_2\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}_2\text{H}\}_x\cdot\text{H}_2\text{O}$; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13519-13526.
- [20] Kim, J.; Chen, B.; Reineke, T. M.; Li, H.; Eddaoudi, M.; Moler, D. B.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Assembly of Metal–Organic Frameworks from Large Organic and Inorganic Secondary Building Units: New Examples and Simplifying Principles for Complex Structures; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8239-8247.
- [21] Tranchemontagne, D. J.; Mendoza-Cortes, J. L.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Secondary building units, nets and bonding in the chemistry of metal-organic frameworks; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1257-1283.
- [22] Yaghi, O. M.; Davis, C. E.; Li, G.; Li, H.; Selective Guest Binding by Tailored Channels in a 3-D Porous Zinc(II)–Benzenetricarboxylate Network; *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2861-2868.
- [23] Li, H.; Eddaoudi, M.; Groy, T. L.; Yaghi, O. M.; Establishing Microporosity in Open Metal–Organic Frameworks: Gas Sorption Isotherms for Zn(BDC) (BDC = 1,4-Benzenedicarboxylate); *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8571-8572.
- [24] Eddaoudi, M.; Kim, J.; Rosi, N.; Vodak, D.; Wachter, J.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Systematic Design of Pore Size and Functionality in Isoreticular MOFs and Their Application in Methane Storage; *Science* **2002**, *295*, 469-472.
- [25] Yaghi, O. M.; O'Keeffe, M.; Ockwig, N. W.; Chae, H. K.; Eddaoudi, M.; Kim, J.; Reticular synthesis and the design of new materials; *Nature* **2003**, *423*, 705-714.
- [26] Li, J.-R.; Sculley, J.; Zhou, H.-C.; Metal–Organic Frameworks for Separations; *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 869-932.
- [27] Guo, Z.; Wu, H.; Srinivas, G.; Zhou, Y.; Xiang, S.; Chen, Z.; Yang, Y.; Zhou, W.; O'Keeffe, M.; Chen, B.; A Metal–Organic Framework with Optimized Open Metal Sites and Pore Spaces for High Methane Storage at Room Temperature; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3178-3181.
- [28] Cavka, J. H.; Jakobsen, S.; Olsbye, U.; Guillou, N.; Lamberti, C.; Bordiga, S.; Lillerud, K. P.; A New Zirconium Inorganic Building Brick Forming Metal Organic Frameworks with Exceptional Stability; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13850-13851.
- [29] Park, K. S.; Ni, Z.; Côté, A. P.; Choi, J. Y.; Huang, R.; Uribe-Romo, F. J.; Chae, H. K.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks; *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, *103*, 10186-10191.
- [30] Horcajada, P.; Chalati, T.; Serre, C.; Gillet, B.; Sebrie, C.; Baati, T.; Eubank, J. F.; Hurtaux, D.; Clayette, P.; Kreuz, C.; Chang, J.-S.; Hwang, Y. K.; Marsaud, V.; Bories, P.-N.; Cynober, L.; Gil, S.; Férey, G.; Couvreur, P.; Gref, R.; Porous metal-organic-

- framework nanoscale carriers as a potential platform for drug delivery and imaging; *Nat Mater* **2010**, *9*, 172-178.
- [31] Hermes, S.; Schröter, M.-K.; Schmid, R.; Khodeir, L.; Muhler, M.; Tissler, A.; Fischer, R. W.; Fischer, R. A.; Metal@MOF: Loading of Highly Porous Coordination Polymers Host Lattices by Metal Organic Chemical Vapor Deposition; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6237-6241.
- [32] Yanai, N.; Kitayama, K.; Hijikata, Y.; Sato, H.; Matsuda, R.; Kubota, Y.; Takata, M.; Mizuno, M.; Uemura, T.; Kitagawa, S.; Gas detection by structural variations of fluorescent guest molecules in a flexible porous coordination polymer; *Nat Mater* **2011**, *10*, 787-793.
- [33] Cohen, S. M.; Postsynthetic Methods for the Functionalization of Metal–Organic Frameworks; *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 970-1000.
- [34] Grünker, R.; Senkovska, I.; Biedermann, R.; Klein, N.; Klausch, A.; Baburin, I. A.; Mueller, U.; Kaskel, S.; Topological Diversity, Adsorption and Fluorescence Properties of MOFs Based on a Tetracarboxylate Ligand; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, *2010*, 3835-3841.
- [35] Givaja, G.; Amo-Ochoa, P.; Gomez-Garcia, C. J.; Zamora, F.; Electrical conductive coordination polymers; *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 115-147.
- [36] Kurmoo, M.; Magnetic metal-organic frameworks; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1353-1379.
- [37] Shekhah, O.; Liu, J.; Fischer, R. A.; Woll, C.; MOF thin films: existing and future applications; *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1081-1106.
- [38] Falcaro, P.; Ricco, R.; Doherty, C. M.; Liang, K.; Hill, A. J.; Styles, M. J.; MOF positioning technology and device fabrication; *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 5513-5560.
- [39] Li, Y.-S.; Liang, F.-Y.; Bux, H.; Feldhoff, A.; Yang, W.-S.; Caro, J.; Molecular Sieve Membrane: Supported Metal–Organic Framework with High Hydrogen Selectivity; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 548-551.
- [40] Biemmi, E.; Scherb, C.; Bein, T.; Oriented Growth of the Metal Organic Framework $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2(\text{H}_2\text{O})_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ Tunable with Functionalized Self-Assembled Monolayers; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8054-8055.
- [41] Horcajada, P.; Serre, C.; Grosso, D.; Boissière, C.; Perruchas, S.; Sanchez, C.; Férey, G.; Colloidal Route for Preparing Optical Thin Films of Nanoporous Metal–Organic Frameworks; *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1931-1935.
- [42] Makiura, R.; Kitagawa, H.; Porous Porphyrin Nanoarchitectures on Surfaces; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, *2010*, 3715-3724.
- [43] Shekhah, O.; Wang, H.; Kowarik, S.; Schreiber, F.; Paulus, M.; Tolan, M.; Sternemann, C.; Evers, F.; Zacher, D.; Fischer, R. A.; Wöll, C.; Step-by-Step Route for the Synthesis of Metal–Organic Frameworks; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15118-15119.
- [44] Shekhah, O.; Wang, H.; Paradinas, M.; Ocal, C.; Schupbach, B.; Terfort, A.; Zacher, D.; Fischer, R. A.; Woll, C.; Controlling interpenetration in metal-organic frameworks by liquid-phase epitaxy; *Nat Mater* **2009**, *8*, 481-484.
- [45] Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M.; Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1170.

- [46] Zhuang, J.-L.; Kind, M.; Grytz, C. M.; Farr, F.; Diefenbach, M.; Tussupbayev, S.; Holthausen, M. C.; Terfort, A.; Insight into the Oriented Growth of Surface-Attached Metal–Organic Frameworks: Surface Functionality, Deposition Temperature, and First Layer Order; *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 8237-8243.
- [47] Kitaura, R.; Fujimoto, K.; Noro, S.-i.; Kondo, M.; Kitagawa, S.; A Pillared-Layer Coordination Polymer Network Displaying Hysteretic Sorption: $[\text{Cu}_2(\text{pzdc})_2(\text{dpyg})]_n$ (pzdc= Pyrazine-2,3-dicarboxylate; dpyg=1,2-Di(4-pyridyl)glycol); *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 133-135.
- [48] Liu, J.; Shekhah, O.; Stammer, X.; Arslan, H. K.; Liu, B.; Schüpbach, B.; Terfort, A.; Wöll, C.; Deposition of Metal-Organic Frameworks by Liquid-Phase Epitaxy: The Influence of Substrate Functional Group Density on Film Orientation; *Materials* **2012**, *5*, 1581-1592.
- [49] Blodgett, K. B.; Langmuir, I.; Built-Up Films of Barium Stearate and Their Optical Properties; *Phys Rev* **1937**, *51*, 964-982.
- [50] Lee, H.; Kepley, L. J.; Hong, H. G.; Akhter, S.; Mallouk, T. E.; Adsorption of ordered zirconium phosphonate multilayer films on silicon and gold surfaces; *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 2597-2601.
- [51] Decher, G.; Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites; *Science* **1997**, *277*, 1232-1237.
- [52] Zacher, D.; Schmid, R.; Wöll, C.; Fischer, R. A.; Surface Chemistry of Metal–Organic Frameworks at the Liquid–Solid Interface; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 176-199.
- [53] Arslan, H. K.; Shekhah, O.; Wieland, D. C. F.; Paulus, M.; Sternemann, C.; Schroer, M. A.; Tiemeyer, S.; Tolan, M.; Fischer, R. A.; Wöll, C.; Intercalation in Layered Metal–Organic Frameworks: Reversible Inclusion of an Extended π -System; *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 8158-8161.
- [54] Arslan, H. K.; Shekhah, O.; Wohlgemuth, J.; Franzreb, M.; Fischer, R. A.; Wöll, C.; High-Throughput Fabrication of Uniform and Homogenous MOF Coatings; *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 4228-4231.
- [55] Stavila, V.; Volponi, J.; Katzenmeyer, A. M.; Dixon, M. C.; Allendorf, M. D.; Kinetics and mechanism of metal-organic framework thin film growth: systematic investigation of HKUST-1 deposition on QCM electrodes; *Chemical Science* **2012**, *3*, 1531-1540.
- [56] Silvestre, M. E.; Franzreb, M.; Weidler, P. G.; Shekhah, O.; Wöll, C.; Magnetic Cores with Porous Coatings: Growth of Metal-Organic Frameworks on Particles Using Liquid Phase Epitaxy; *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 1210-1213.
- [57] Ke, F.; Wang, L.; Zhu, J.; Multifunctional Au-Fe₃O₄@MOF core-shell nanocomposite catalysts with controllable reactivity and magnetic recyclability; *Nanoscale* **2015**, *7*, 1201-1208.
- [58] Ke, F.; Zhu, J.; Qiu, L.-G.; Jiang, X.; Controlled synthesis of novel Au@MIL-100(Fe) core-shell nanoparticles with enhanced catalytic performance; *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1267-1269.
- [59] He, L.; Liu, Y.; Liu, J.; Xiong, Y.; Zheng, J.; Liu, Y.; Tang, Z.; Core–Shell Noble-Metal@Metal-Organic-Framework Nanoparticles with Highly Selective Sensing Property; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 3829-3833.

- [60] Qin, W.; Silvestre, M. E.; Brenner-Weiss, G.; Wang, Z.; Schmitt, S.; Hübner, J.; Franzreb, M.; Insights into the separation performance of MOFs by high-performance liquid chromatography and in-depth modelling; *Separation and Purification Technology* **2015**, *156*, Part 2, 249-258.
- [61] Mahmoudi, K.; Hadjipanayis, C. G.; The application of magnetic nanoparticles for the treatment of brain tumors; *Frontiers in Chemistry* **2014**, *2*.
- [62] Pankhurst, Q. A.; Connolly, J.; Jones, S. K.; Dobson, J.; Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine; *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2003**, *36*, R167.
- [63] Wust, P.; Hildebrandt, B.; Sreenivasa, G.; Rau, B.; Gellermann, J.; Riess, H.; Felix, R.; Schlag, P. M.; Hyperthermia in combined treatment of cancer; *The Lancet Oncology* **2002**, *3*, 487-497.
- [64] Kumar, C. S. S. R.; Mohammad, F.; Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery; *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2011**, *63*, 789-808.
- [65] Yan, Y.; Björnmalm, M.; Caruso, F.; Assembly of Layer-by-Layer Particles and Their Interactions with Biological Systems; *Chem. Mater.* **2013**.
- [66] Hanke, M.; Arslan, H. K.; Bauer, S.; Zybaylo, O.; Christophis, C.; Gliemann, H.; Rosenhahn, A.; Wöll, C.; The Biocompatibility of Metal–Organic Framework Coatings: An Investigation on the Stability of SURMOFs with Regard to Water and Selected Cell Culture Media; *Langmuir* **2012**, *28*, 6877-6884.
- [67] Colombo, V.; Galli, S.; Choi, H. J.; Han, G. D.; Maspero, A.; Palmisano, G.; Masciocchi, N.; Long, J. R.; High thermal and chemical stability in pyrazolate-bridged metal-organic frameworks with exposed metal sites; *Chemical Science* **2011**, *2*, 1311-1319.
- [68] Burtch, N. C.; Jasuja, H.; Walton, K. S.; Water Stability and Adsorption in Metal–Organic Frameworks; *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 10575-10612.
- [69] Horcajada, P.; Surble, S.; Serre, C.; Hong, D.-Y.; Seo, Y.-K.; Chang, J.-S.; Greneche, J.-M.; Margiolaki, I.; Férey, G.; Synthesis and catalytic properties of MIL-100(Fe), an iron(III) carboxylate with large pores; *Chem. Commun.* **2007**, 2820-2822.
- [70] Brewer, L.; Rosenblatt, G. M. In *Advances in High Temperature Chemistry*; Leroy, E., Ed.; Elsevier: 1969; Vol. Volume 2, p 1-83.
- [71] McKinlay, A. C.; Morris, R. E.; Horcajada, P.; Férey, G.; Gref, R.; Couvreur, P.; Serre, C.; BioMOFs: Metal–Organic Frameworks for Biological and Medical Applications; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6260-6266.
- [72] Horcajada, P.; Gref, R.; Baati, T.; Allan, P. K.; Maurin, G.; Couvreur, P.; Férey, G.; Morris, R. E.; Serre, C.; Metal–Organic Frameworks in Biomedicine; *Chem. Rev.* **2011**, *112*, 1232-1268.
- [73] Miller, S. R.; Heurtaux, D.; Baati, T.; Horcajada, P.; Greneche, J.-M.; Serre, C.; Biodegradable therapeutic MOFs for the delivery of bioactive molecules; *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4526-4528.
- [74] Horcajada, P.; Serre, C.; Vallet-Regí, M.; Sebban, M.; Taulelle, F.; Férey, G.; Metal–Organic Frameworks as Efficient Materials for Drug Delivery; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5974-5978.
- [75] Cavenati, S.; Grande, C. A.; Rodrigues, A. E.; Kiener, C.; Müller, U.; Metal Organic Framework Adsorbent for Biogas Upgrading; *Ind. Eng. Chem. Res.* **2008**, *47*, 6333-6335.

- [76] Guillermin, V.; Gross, S.; Serre, C.; Devic, T.; Bauer, M.; Férey, G.; A zirconium methacrylate oxocluster as precursor for the low-temperature synthesis of porous zirconium(IV) dicarboxylates; *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 767-769.
- [77] Serre, C.; Millange, F.; Surblé, S.; Férey, G.; A Route to the Synthesis of Trivalent Transition-Metal Porous Carboxylates with Trimeric Secondary Building Units; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6285-6289.
- [78] Serre, C.; Superhydrophobicity in Highly Fluorinated Porous Metal–Organic Frameworks; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 6048-6050.
- [79] Nguyen, J. G.; Cohen, S. M.; Moisture-Resistant and Superhydrophobic Metal–Organic Frameworks Obtained via Postsynthetic Modification; *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4560-4561.
- [80] Nguyen, J. G.; Tanabe, K. K.; Cohen, S. M.; Postsynthetic diazeniumdiolate formation and NO release from MOFs; *CrystEngComm* **2010**, *12*, 2335-2338.
- [81] Tanabe, K. K.; Cohen, S. M.; Postsynthetic modification of metal-organic frameworks—a progress report; *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 498-519.
- [82] Jasuja, H.; Burtch, N. C.; Huang, Y.-g.; Cai, Y.; Walton, K. S.; Kinetic Water Stability of an Isostructural Family of Zinc-Based Pillared Metal–Organic Frameworks; *Langmuir* **2013**, *29*, 633-642.
- [83] Tsotsalas, M.; Liu, J.; Tettmann, B.; Grosjean, S.; Shahnas, A.; Wang, Z.; Azucena, C.; Addicoat, M.; Heine, T.; Lahann, J.; Overhage, J.; Bräse, S.; Gliemann, H.; Wöll, C.; Fabrication of Highly Uniform Gel Coatings by the Conversion of Surface-Anchored Metal–Organic Frameworks; *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *136*, 8-11.
- [84] Ishiwata, T.; Furukawa, Y.; Sugikawa, K.; Kokado, K.; Sada, K.; Transformation of Metal–Organic Framework to Polymer Gel by Cross-Linking the Organic Ligands Preorganized in Metal–Organic Framework; *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5427-5432.
- [85] Itskovitz-Eldor, J.; Schuldiner, M.; Karsenti, D.; Eden, A.; Yanuka, O.; Amit, M.; Soreq, H.; Benvenisty, N.; Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers; *Mol. Med.* **2000**, *6*, 88-95.
- [86] Charras, G.; Sahai, E.; Physical influences of the extracellular environment on cell migration; *Nature Reviews: Molecular Cell Biology* **2014**, *15*, 813-824.
- [87] Kim, D.-H.; Provenzano, P. P.; Smith, C. L.; Levchenko, A.; Matrix nanotopography as a regulator of cell function; *The Journal of Cell Biology* **2012**, *197*, 351-360.
- [88] Wu, G.; Li, P.; Feng, H.; Zhang, X.; Chu, P. K.; Engineering and functionalization of biomaterials via surface modification; *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3*, 2024-2042.
- [89] Chandra, P.; Lee, S. J.; Synthetic Extracellular Microenvironment for Modulating Stem Cell Behaviors; *Biomarker Insights* **2015**, *10*, 105-116.
- [90] Bhat, S.; Kumar, A.; Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare; *Biomatter* **2013**, *3*, e24717.
- [91] Lodish, H. F. *Molecular cell biology*; 6. ed. ed.; Freeman: New York, NY, 2008.
- [92] Kumar, C.; Signaling by integrin receptors; *Oncogene* **1998**, 1365-1373.
- [93] Singh, S. P.; Schwartz, M. P.; Lee, J. Y.; Fairbanks, B. D.; Anseth, K. S.; A peptide functionalized poly(ethylene glycol) (PEG) hydrogel for investigating the influence of biochemical and biophysical matrix properties on tumor cell migration; *Biomaterials Science* **2014**, *2*, 1024-1034.

- [94] Krischner, H. *Einführung in die Röntgenfeinstrukturanalyse : Lehrbuch für Physiker, Chemiker, Physikochemiker, Metallurgen, Kristallographen und Mineralogen im 2. Studienabschnitt; mit 29 Tab; 4., überarb. Aufl. ed.*; Vieweg: Braunschweig, 1990.
- [95] *Moderne Röntgenbeugung : Röntgendiffraktometrie für Materialwissenschaftler, Physiker und Chemiker; 2., überarbeitete und erweiterte Auflage ed.*; Vieweg+Teubner: Wiesbaden, 2009.
- [96] Bergmann, L.; Schaefer, C. *Lehrbuch der Experimentalphysik : Wellenoptik*; de Gruyter: Berlin, 1956.
- [97] Griffiths, P. R.; de Haseth, J. A. In *Fourier Transform Infrared Spectrometry*; John Wiley & Sons, Inc.: 2006, p 1-18.
- [98] Günzler, H.; Gremlich, H.-U. *IR-Spektroskopie : eine Einführung; 4., vollst. überarb. und aktualisierte Aufl. ed.*; Wiley-VCH: Weinheim, 2003.
- [99] Schwedt, G. *Analytische Chemie : Grundlagen, Methoden und Praxis; 2., vollst. überarb. Aufl. ed.*; Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
- [100] *Internal Reflection Spectroscopy - Theory and Applications*; Mirabella, F. M., Ed.; CRC Press, 1992; Vol. 15.
- [101] Harrick, N. J. *Internal reflection spectroscopy*; 3. print. ed.; Harrick Scientific Corp.: New York, 1987.
- [102] Greenler, R. G.; Reflection Method for Obtaining the Infrared Spectrum of a Thin Layer on a Metal Surface; *The Journal of Chemical Physics* **1969**, *50*, 1963-1968.
- [103] Kattner, J.; Hoffmann, H. In *Handbook of Vibrational Spectroscopy*; John Wiley & Sons, Ltd: 2006.
- [104] Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie : 102 Tabellen; 7., überarb. Aufl. ed.*; Thieme: Stuttgart [u.a.], 2005.
- [105] *Spektroskopie : Strukturaufklärung in der Organischen Chemie; 2., aktualisierte Aufl. ed.*; Pearson Higher Education: München [u.a.], 2012.
- [106] Haus, J. *Optische Mikroskopie : Funktionsweise und Kontrastierverfahren*; Wiley-VCH: Weinheim, 2014.
- [107] Colliex, C. *Elektronenmikroskopie : eine anwendungsbezogene Einführung*; Wiss. Verl.-Ges.: Stuttgart, 2008.
- [108] Ruska, E. *Die frühe Entwicklung der Elektronenlinsen und der Elektronenmikroskopie*; Barth: Leipzig, 1979.
- [109] Fitting, H.-J.; Touzin, M.; Cornet, N.; Goeuriot, D.; Juvé, D.; Guerret-Piécourt, C.; Non-conductive sample charging in SEM and ESEM; *Microsc. Microanal.* **2007**, *13*, 76-77.
- [110] Sauerbrey, G.; Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung; *Zeitschrift für Physik* **1959**, *155*, 206-222.
- [111] Sittel, K.; Rouse, P. E.; Bailey, E. D.; Method for Determining the Viscoelastic Properties of Dilute Polymer Solutions at Audio-Frequencies; *J. App. Phys.* **1954**, *25*, 1312-1320.
- [112] Richter, R. P. PhD Thesis, Université Bordeaux, 2004.
- [113] Altintas, O.; Glassner, M.; Rodriguez-Emmenegger, C.; Welle, A.; Trouillet, V.; Barner-Kowollik, C.; Macromolecular Surface Design: Photopatterning of Functional Stable Nitrile Oxides; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 5777-5783.
- [114] Muramoto, S.; Graham, D. J.; Wagner, M. S.; Lee, T. G.; Moon, D. W.; Castner, D. G.; ToF-SIMS Analysis of Adsorbed Proteins: Principal Component Analysis of the

- Primary Ion Species Effect on the Protein Fragmentation Patterns; *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 24247-24255.
- [115] Himmel, H.-J.; Terfort, A.; Wöll, C.; Fabrication of a Carboxyl-Terminated Organic Surface with Self-Assembly of Functionalized Terphenylthiols: The Importance of Hydrogen Bond Formation; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12069-12074.
- [116] Himmel, H.-J.; Terfort, A.; Arnold, R.; Wöll, C.; Chemical properties of hydrogen-bonded organic bilayers fabricated via self-assembly of COOH-functionalised oligophenylthiols on Au substrates; *Mater. Sci. Eng. C* **1999**, *8-9*, 431-435.
- [117] Arnold, R.; Azzam, W.; Terfort, A.; Wöll, C.; Preparation, Modification, and Crystallinity of Aliphatic and Aromatic Carboxylic Acid Terminated Self-Assembled Monolayers; *Langmuir* **2002**, *18*, 3980-3992.
- [118] Barral, K.; Moorhouse, A. D.; Moses, J. E.; Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A One-Pot Synthesis of Triazole Linkages; *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.
- [119] Henke, S.; Schneemann, A.; Wütscher, A.; Fischer, R. A.; Directing the Breathing Behavior of Pillared-Layered Metal–Organic Frameworks via a Systematic Library of Functionalized Linkers Bearing Flexible Substituents; *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9464-9474.
- [120] Campbell, T. W.; Dicarboxylation of Terphenyl; *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3126-3128.
- [121] Gorman, I. E.; Willer, R. L.; Kemp, L. K.; Storey, R. F.; Development of a triazole-cure resin system for composites: Evaluation of alkyne curatives; *Polymer* **2012**, *53*, 2548-2558.
- [122] Turchanin, A.; Beyer, A.; Nottbohm, C. T.; Zhang, X.; Stosch, R.; Sologubenko, A.; Mayer, J.; Hinze, P.; Weimann, T.; Götzhäuser, A.; One Nanometer Thin Carbon Nanosheets with Tunable Conductivity and Stiffness; *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1233-1237.
- [123] Ai, M.; Shishatskiy, S.; Wind, J.; Zhang, X.; Nottbohm, C. T.; Mellech, N.; Winter, A.; Vieker, H.; Qiu, J.; Dietz, K.-J.; Götzhäuser, A.; Beyer, A.; Carbon Nanomembranes (CNMs) Supported by Polymer: Mechanics and Gas Permeation; *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 3421-3426.
- [124] Lindemann, P.; Tsotsalas, M.; Shishatskiy, S.; Abetz, V.; Krolla-Sidenstein, P.; Azucena, C.; Monnereau, L.; Beyer, A.; Götzhäuser, A.; Mugnaini, V.; Gliemann, H.; Bräse, S.; Wöll, C.; Preparation of Freestanding Conjugated Microporous Polymer Nanomembranes for Gas Separation; *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 7189-7193.
- [125] Prime, K.; Whitesides, G.; Self-assembled organic monolayers: model systems for studying adsorption of proteins at surfaces; *Science* **1991**, *252*, 1164-1167.
- [126] Wang, Z.; Liu, J.; Lukose, B.; Gu, Z.; Weidler, P. G.; Gliemann, H.; Heine, T.; Wöll, C.; Nanoporous Designer Solids with Huge Lattice Constant Gradients: Multiheteroepitaxy of Metal–Organic Frameworks; *Nano Lett.* **2014**, *14*, 1526-1529.
- [127] Chan, A.; Orme, R. P.; Fricker, R. A.; Roach, P.; Remote and local control of stimuli responsive materials for therapeutic applications; *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2013**, *65*, 497-514.
- [128] Schmitt, S.; Silvestre, M.; Tsotsalas, M.; Winkler, A.-L.; Shahnas, A.; Grosjean, S.; Laye, F.; Gliemann, H.; Lahann, J.; Bräse, S.; Franzreb, M.; Wöll, C.; Hierarchically

- Functionalized Magnetic Core/Multishell Particles and Their Postsynthetic Conversion to Polymer Capsules; *ACS Nano* **2015**, *9*, 4219-4226.
- [129] Ricka, J.; Tanaka, T.; Swelling of ionic gels: quantitative performance of the Donnan theory; *Macromolecules* **1984**, *17*, 2916-2921.
- [130] Helfferich, F.; Ion-Exchange Kinetics. V. Ion Exchange Accompanied by Reactions; *The Journal of Physical Chemistry* **1965**, *69*, 1178-1187.
- [131] Gehrke, S. H.; Cussler, E. L.; Mass transfer in pH-sensitive hydrogels; *Chem. Eng. Sci.* **1989**, *44*, 559-566.
- [132] Ninawe, P. R.; Parulekar, S. J.; Drug loading into and drug release from pH- and temperature-responsive cylindrical hydrogels; *Biotechnol. Progr.* **2011**, *27*, 1442-1454.
- [133] Hoare, T. R.; Kohane, D. S.; Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges; *Polymer* **2008**, *49*, 1993-2007.
- [134] Sousa, R. G.; Prior-Cabanillas, A.; Quijada-Garrido, I.; Barrales-Rienda, J. M.; Dependence of copolymer composition, swelling history, and drug concentration on the loading of diltiazem hydrochloride (DIL.HCl) into poly[(N-isopropylacrylamide)-co-(methacrylic acid)] hydrogels and its release behaviour from hydrogel slabs; *J. Controlled Release* **2005**, *102*, 595-606.
- [135] Peppas, N. A.; Khare, A. R.; Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release; *Adv. Drug Deliver. Rev.* **1993**, *11*, 1-35.
- [136] Mugnaini, V.; Tsotsalas, M.; Bebensee, F.; Grosjean, S.; Shahnas, A.; Brase, S.; Lahann, J.; Buck, M.; Woll, C.; Electrochemical investigation of covalently post-synthetic modified SURGEL coatings; *Chem. Commun.* **2014**.
- [137] Khaletskaya, K.; Reboul, J.; Meilikhov, M.; Nakahama, M.; Diring, S.; Tsujimoto, M.; Isoda, S.; Kim, F.; Kamei, K.-i.; Fischer, R. A.; Kitagawa, S.; Furukawa, S.; Integration of Porous Coordination Polymers and Gold Nanorods into Core-Shell Mesoscopic Composites toward Light-Induced Molecular Release; *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 10998-11005.
- [138] Argyo, C.; Weiss, V.; Bräuchle, C.; Bein, T.; Multifunctional Mesoporous Silica Nanoparticles as a Universal Platform for Drug Delivery; *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 435-451.
- [139] Hench, L.; Biomaterials; *Science* **1980**, *208*, 826-831.
- [140] Hench, L. L.; Biomaterials: a forecast for the future; *Biomaterials* **1998**, *19*, 1419-1423.
- [141] Hutmacher, D. W.; Regenerative medicine will impact, but not replace, the medical device industry; *Expert Review of Medical Devices* **2006**, *3*, 409-412.
- [142] Holzapfel, B. M.; Reichert, J. C.; Schantz, J.-T.; Gbureck, U.; Rackwitz, L.; Nöth, U.; Jakob, F.; Rudert, M.; Groll, J.; Hutmacher, D. W.; How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view; *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2013**, *65*, 581-603.
- [143] Huebsch, N.; Arany, P. R.; Mao, A. S.; Shvartsman, D.; Ali, O. A.; Bencherif, S. A.; Rivera-Feliciano, J.; Mooney, D. J.; Harnessing traction-mediated manipulation of the cell/matrix interface to control stem-cell fate; *Nat Mater* **2010**, *9*, 518-526.
- [144] Dalby, M. J.; Gadegaard, N.; Tare, R.; Andar, A.; Riehle, M. O.; Herzyk, P.; Wilkinson, C. D. W.; Oreffo, R. O. C.; The control of human mesenchymal cell

- differentiation using nanoscale symmetry and disorder; *Nat Mater* **2007**, *6*, 997-1003.
- [145] Curran, J. M.; Chen, R.; Hunt, J. A.; Controlling the phenotype and function of mesenchymal stem cells in vitro by adhesion to silane-modified clean glass surfaces; *Biomaterials* **2005**, *26*, 7057-7067.
- [146] Rochet, N.; Dubousset, J.; Mazeau, C.; Zanghellini, E.; Farges, M.-F.; Stora de Novion, H.; Chompret, A.; Delpech, B.; Cattan, N.; Frenay, M.; Gioanni, J.; Establishment, characterisation and partial cytokine expression profile of a new human osteosarcoma cell line (CAL 72); *Int. J. Cancer* **1999**, *82*, 282-285.
- [147] Kilian, K. A.; Mrksich, M.; Directing Stem Cell Fate by Controlling the Affinity and Density of Ligand–Receptor Interactions at the Biomaterials Interface; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 4975-4979.
- [148] Chien, H.-W.; Fu, S.-W.; Shih, A.-Y.; Tsai, W.-B.; Modulation of the stemness and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by controlling RGD concentrations of poly(carboxybetaine) hydrogel; *Biotech. J.* **2014**, *9*, 1613-1623.
- [149] Ochoa-Herrera, V.; León, G.; Banihani, Q.; Field, J. A.; Sierra-Alvarez, R.; Toxicity of copper(II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems; *Sci. Total Environ.* **2011**, *412–413*, 380-385.
- [150] Feng, W.; Li, L.; Ueda, E.; Li, J.; Heißler, S.; Welle, A.; Trapp, O.; Levkin, P. A.; Surface Patterning via Thiol-Yne Click Chemistry: An Extremely Fast and Versatile Approach to Superhydrophilic-Superhydrophobic Micropatterns; *Adv. Mater. Interfaces* **2014**, *1*, n/a-n/a.
- [151] Lhoest, J. B.; Wagner, M. S.; Tidwell, C. D.; Castner, D. G.; Characterization of adsorbed protein films by time of flight secondary ion mass spectrometry; *J. Biomed. Mater. Research* **2001**, *57*, 432-440.
- [152] Jeon, S. I.; Lee, J. H.; Andrade, J. D.; De Gennes, P. G.; Protein—surface interactions in the presence of polyethylene oxide; *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *142*, 149-158.
- [153] Czeslik, C. In *Zeitschrift für Physikalische Chemie/International journal of research in physical chemistry and chemical physics* 2004; Vol. 218, p 771.
- [154] Herrwerth, S.; Eck, W.; Reinhardt, S.; Grunze, M.; Factors that Determine the Protein Resistance of Oligoether Self-Assembled Monolayers – Internal Hydrophilicity, Terminal Hydrophilicity, and Lateral Packing Density; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9359-9366.
- [155] Chelmowski, R., PhD Thesis, Ruhr-Universität Bochum, 2008.
- [156] Chelmowski, R.; Köster, S. D.; Kerstan, A.; Prekelt, A.; Grunwald, C.; Winkler, T.; Metzler-Nolte, N.; Terfort, A.; Wöll, C.; Peptide-Based SAMs that Resist the Adsorption of Proteins; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14952-14953.
- [157] Bain, C. D.; Troughton, E. B.; Tao, Y. T.; Evall, J.; Whitesides, G. M.; Nuzzo, R. G.; Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 321-335.
- [158] Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C.; Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: new challenges for a well-known system; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1805-1834.
- [159] Israelachvili, J.; The different faces of poly(ethylene glycol); *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94*, 8378-8379.

- [160] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- [161] Hoyle, C. E.; Lee, T. Y.; Roper, T.; Thiol-enes: Chemistry of the past with promise for the future; *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 5301-5338.
- [162] Lowe, A. B.; Thiol-ene "click" reactions and recent applications in polymer and materials synthesis; *Polymer Chemistry* **2010**, *1*, 17-36.
- [163] Li, H.; Eddaoudi, M.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M.; Design and synthesis of an exceptionally stable and highly porous metal-organic framework; *Nature* **1999**, *402*, 276-279.
- [164] Ji, M.; Lan, X.; Han, Z.; Hao, C.; Qiu, J.; Luminescent Properties of Metal-Organic Framework MOF-5: Relativistic Time-Dependent Density Functional Theory Investigations; *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 12389-12394.
- [165] Zacher, D.; Yusenko, K.; Bétard, A.; Henke, S.; Molon, M.; Lahnorg, T.; Shekhah, O.; Schüpbach, B.; de los Arcos, T.; Krasnopolski, M.; Meilikhov, M.; Winter, J.; Terfort, A.; Wöll, C.; Fischer, R. A.; Liquid-Phase Epitaxy of Multicomponent Layer-Based Porous Coordination Polymer Thin Films of $[M(L)(P)_{0.5}]$ Type: Importance of Deposition Sequence on the Oriented Growth; *Chem. – Eur. J.* **2011**, *17*, 1448-1455.
- [166] Uehara, H.; Diring, S.; Furukawa, S.; Kalay, Z.; Tsotsalas, M.; Nakahama, M.; Hirai, K.; Kondo, M.; Sakata, O.; Kitagawa, S.; Porous Coordination Polymer Hybrid Device with Quartz Oscillator: Effect of Crystal Size on Sorption Kinetics; *J. Amer. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11932-11935.
- [167] Meilikhov, M.; Furukawa, S.; Hirai, K.; Fischer, R. A.; Kitagawa, S.; Binary Janus Porous Coordination Polymer Coatings for Sensor Devices with Tunable Analyte Affinity; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 341-345.

8 PUBLIKATIONEN

- [1] Schmitt, S.; Silvestre, M.; Tsotsalas, M.; Winkler, A.-L.; Shahnas, A.; Grosjean, S.; Laye, F.; Gliemann, H.; Lahann, J.; Bräse, S.; Franzreb, M.; Wöll, C.; Hierarchically Functionalized Magnetic Core/Multishell Particles and Their Postsynthetic Conversion to Polymer Capsules; *ACS Nano* **2015**, 9, 4219 – 4226.
- [2] Benndorf, P.; Schmitt, S.; Köppe, R.; Oña-Burgos, P.; Scheurer, A.; Meyer, K.; Roesky, P. W.; Catching Gaseous SO₂ in Cone-Type Lanthanide Complexes: An Unexpected Coordination Mode for SO₂ in f-Element Chemistry; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 5006 – 5010.
- [3] Tsotsalas, M.; Maheshwari, H.; Schmitt, S.; Heißler, S.; Feng, W.; Levkin, P.; Freestanding MOF Microsheets with Defined Size and Geometry Using Superhydrophobic–Superhydrophilic Arrays; *P. A. Adv. Mater. Interfaces*, **2015**, DOI: 10.1002/admi.201500392
- [4] Qin, W.; Silvestre, M. E.; Brenner-Weiss, G.; Wang, Z.; Schmitt, S.; Hübner, J.; Franzreb, M.; Insights into the separation performance of MOFs by high-performance liquid chromatography and in-depth modelling, *Separation and Purification Technology*, **2015** doi:10.1016/j.seppur.2015.10.008
- [5] Schmitt, S.; Hümme,r J.; Kraus, S.; Welle, A.; Wöll, C.; Lee-Thedieck, C.; Tsotsalas, M.; Peptide Surface Functionalization of Ideal Network Polymer Thin Films as Biocompatible Cell Culture Substrate [in Bearbeitung].
- [6] Schmitt, S.; Tsotsalas, M.; Diring, S.; Furukawa, S.; Kitagawa, S.; Wöll, C.; Localized Polymer Gel Conversion of Metal-organic Frameworks by light induced Thiol-ene Reaction [In Bearbeitung].

9 DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. Christof Wöll für die interessante Themenstellung und die Möglichkeit bedanken mich diesem Thema anhand eigener Ideen aber auch mithilfe vieler hilfreicher Diskussionen zu nähern. Auch bei Prof. Peter Roesky bedanke ich mich für die Übernahme des Koreferats.

Ein großes Dankeschön gilt ebenfalls Dr. Manuel Tsotsalas, der mich während der gesamten drei Jahre meiner Doktorarbeit in jeglicher Hinsicht unterstützt hat. Vielen Dank für die zahlreichen Diskussionen, Hilfestellungen und die stets motivierenden Worte.

Bei Stefan Heißler, Dr. Peter Weidler und Peter Krolla-Sidenstein möchte ich mich für die Hilfestellungen bei verschiedenen Messungen und die anschließenden Diskussionen und Auswertungen bedanken.

Dr. Jinxuan Liu, Dr. Veronica Mugnaini, Dr. Peter Lindemann, Stefan Heißler, Dr. Peter Weidler, Dr. Lars Heinke, Dr. Frank Kirschhöfer und Jens Heinrichs danke ich für die Einweisung in verschiedene Charakterisierungs- und Synthesemethoden.

Den Auszubildenden, Praktikanten und Mitarbeitern, die während der letzten drei Jahre mit mir gearbeitet haben (Laksiya Kanagaratnam, Viola Veigl, Yannick Träutlein, Sibylle Heidt, Caio Cavalcanti De Oliveira Ferreira und Samuel Bergdolt) danke ich für die Hilfestellungen im Labor, bei Messungen und Auswertungen.

Verschiedenen Kooperationspartnern am IFG, vor allem Cornelia Lee-Thedieck, Saskia Kraus, Martin Silvestre, Jonas Hübner und Prof. Matthias Franzreb danke ich für die nette Zusammenarbeit, Bereitstellung verschiedener Geräte und Labore und hilfreichen Diskussionen. Auch außerhalb des IFGs haben Kooperationspartner, vor allem Dr. Sylvain Grosjean, Prof. Stephan Bräse und Prof. Rachel Ee Pui Lai einen wesentlichen Beitrag zum Erfolg meiner Arbeit geleistet.

Allen Mitgliedern und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe (Manuel, Maria, Peter, Carlos, Lars, Jianxi, Jinxuan, Peter, Silvana, Stefan, Peter, Hartmut und allen anderen) danke ich dafür, dass ich während der letzten drei Jahre eine schöne und angenehme Zeit in der Gruppe hatte.

Ein extra Dankeschön geht auch an die Abteilungsleiter Hartmut Gliemann und Peter Weidler für die Betreuung, Hilfe bei computertechnischen Problemen und sonstiger Unterstützung. Auch Astrid Biedermann und Stefanie Sellheim-Ret danke ich für die Hilfe bei vielen kleineren und größeren Problemen.

Dem Karlsruhe House of Young Scientists (KHYS) möchte ich für die finanzielle Unterstützung bei gleich zwei mehrmonatigen Aufenthalten an der Universität Kyoto danken. Die dadurch ermöglichten Erfahrungen und Ergebnisse, die ich während der Arbeit in Kyoto sammeln konnte, haben sehr zu der schönen und lehrreichen Zeit meiner Doktorarbeit beigetragen. Auch ein großer Dank in dieser Hinsicht geht an Prof. Wöll und Dr. Manuel Tsotsalas, mit deren Unterstützung diese Aufenthalte erst möglich wurden.

Prof. Susumu Kitagawa und Prof. Shuhei Furukawa vom Institut for Integrated Cell-Material Science (iCeMS) der Universität Kyoto danke ich für die Aufnahme und Betreuung in ihrer Arbeitsgruppe. Vielen Dank auch an Dr. Stephane Diring, der mir durch Hilfestellungen, Ideen und Diskussionen die Möglichkeit gegeben hat mein Projekt in Kyoto voranzutreiben und meine Erfahrungen vor allem im Bereich der synthetischen Chemie zu erweitern. Hammer, Enno, Chiwong, Patrick, Silvia und allen anderen danke ich für eine herzliche Aufnahme in der Gruppe, eine schöne Zeit im Labor und auch außerhalb der Uni.

Kiyo Yamashita and Yoko Takahara danke ich für die großen Hilfestellungen bei der Organisation der Anreise, der Unterkunft, SIM-Karte und vielen anderen Dingen, die ohne japanische Sprachkenntnisse schwer zu organisieren gewesen wären.

Den Korrekturlesern meiner Doktorarbeit oder zumindest einzelner Kapitel davon (Manuel Tsotsalas, Franziska Völcker, Stefan Heißler, Silvana Röse und meiner Schwester Hannah) möchte ich mich auch ganz herzlich für die Zeit, konstruktive Kritik und Vorschläge danken.

Zum Schluss bedanke ich mich auch vor allem auch meiner Familie und meinen Freunden für die Unterstützung während der Zeit meiner Doktorarbeit und des Studiums.